

SÉRIE A, N° 3138
N° D'ORDRE :
4010

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES
DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ÈS SCIENCES NATURELLES

PAR

ELIE WOLLMAN

1^{re} THÈSE. — RECHERCHES SUR LA CONJUGAISON DES BACTÉRIES ET SUR LE
DÉTERMINISME GÉNÉTIQUE DE LA LYSOGÉNIE.

2^e THÈSE. — PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ.

Soutenues le 18 mars 1958 devant la Commission d'examen.

MM. ÉPHRUSSI.....	Président.
L'HÉRITIER.....	} Examinateurs.
RIZET.....	

LAVAL
IMPRIMERIE BARNÉOUD S. A.

—
1959

SÉRIE A, n° 3138

N° D'ORDRE :

4010

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ÈS SCIENCES NATURELLES

PAR

ELIE WOLLMAN

1^{re} THÈSE. — RECHERCHES SUR LA CONJUGAISON DES BACTÉRIES ET SUR LE
DÉTERMINISME GÉNÉTIQUE DE LA LYSOGÉNIE.

2^e THÈSE. — PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ.

Soutenues le 18 mars 1958 devant la Commission d'examen.

MM. ÉPHRUSSI.....	Président.
L'HÉRITIER.....	} Examinateurs.
RIZET.....	

LAVAL
IMPRIMERIE BARNÉOUD S. A.

1959



FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

Doyen J. PÉRÈS

PROFESSEURS

G. JULIA.....	T	Analyse supérieure et Algèbre supérieure.	QUENEY	T	Météorologie et dynamique atmosphérique.
FOCH	T	Mécanique physique et expérimentale.	GALLIEN	T	Embryologie.
PAUTHENIER	T	Electrotechnique générale	EICHHORN	T	Biologie végétale (P.C.B.).
DE BROGLIE.....	T	Théories physiques.	DE CUGNAC.....	T	Biologie végétale (P.C.B.).
PRENANT	T	Anatomie et Histologie comparées.	M ^{lle} CAUCHOIS.....	T	Chimie physique.
GARNIER	T	Géométrie supérieure.	TBELLIER	T	Physique du Globe.
PÉRÈS	T	Mécanique des fluides et applications.	L'HÉRITIER	T	Génétique.
LAUGIER	T	Physiologie générale.	GRIVET	T	Radioélectricité.
M. CURIE.....	T	Physique (S.P.C.N.).	PONCIN	T	Mécanique des fluides.
BARRABÉ	T	Géologie structurale et Géologie appliquée.	DUBREIL	T	Arithmétique et théorie des nombres.
G. DARMOIS.....	T	Calcul des probabilités et Physique mathématique	QUELET	T	Chimie organique.
Jacques BOURCART.	T	Géographie physique et Géologie dynamique.	CAGNIARD	T	Géophysique appliquée.
PLANTEFOL	T	Botanique.	CHAMPETIER	T	Chimie macromoléculaire.
GRASSÉ	T	Évolution des êtres organisés.	CUVILLIER	T	Géologie structurale et Géologie appliquée.
PRÉVOST	T	Chimie organique.	JUNG	T	Pétrographie.
BOULICAND	T	Application de l'analyse à la Géométrie.	TRILLAT	T	Microscopie et diffraction électronique.
CHAUDRON	T	Chimie appliquée.	WIEMANN	T	Chimie organique et structurale.
VYART	T	Minéralogie.	JACQUINOT	T	Spectroscopie et physique céleste.
TEISSIER	T	Zoologie.	VASSY	T	Physique de l'atmosphère
MANGENOT	T	Biologie végétale.	DESTOUCHES	T	Théories physiques.
P. AUGER.....	T	Physique quantique et relativité.	M. PRUVOST.....	T	Géologie.
MONNIER	T	Physiologie des fonctions.	AMIEL	T	Chimie générale (P.C.B.).
PIVETEAU	T	Paléontologie.	HOCART	T	Minéralogie.
ROCARD	T	Physique (E.N.S.).	J.-P. MATHIEU.....	T	Physique (P.C.B.).
H. CARTAN	T	Mathématiques (E.N.S.).	COUTEAUX	T	Biologie animale (P.C.B.).
LAFFITTE	T	Chimie générale.	MAY	T	Biologie animale (P.C.B.).
FAYARD	T	Mécanique générale.	CHOQUET	T	Calcul différentiel et intégral.
COULOMB	T	Physique du Globe.	FELDMANN	T	Biologie (P.C.B.).
M ^{lle} COUSIN.....	T	Biologie animale (S.P.C.N.).	GUINIER	T	Physique génér. (P.C.B.).
CHRÉTIEN	T	Chimie minérale.	JOST	T	Physiologie comparée.
P. DRACH.....	T	Zoologie.	FORTET	T	Calcul des probabilités.
KASTLER	T	Physique.	SCHWARTZ	T	Méthode mathémat. de la Physique.
EPHRUSSI	T	Génétique.	CHOUARD	T	Physiologie végétale.
WURMSER	T	Biologie physico-chimique.	MALAVARD	T	Aviation.
RIVIÈRE	T	Géologie (S.P.C.N.).	BRELOT	T	Calcul différentiel.
GAUTHERET	T	Biologie végétale (P.C.B.).	NORMANT	T	Chimie organique (P.C.B.).
LUCAS	T	Recherches physiques.	BÉNARD	T	Chimie (P.C.B.).
A. THOMAS	T	Biologie cellulaire.	BUVAT	T	Botanique (E.N.S.).
ARNULF	T	Optique appliquée.	DUGUÉ	T	Statistiques mathématiques.
MAX MORAND.....	T	Enseignement de Phys.	GELOSO	T	Chimie (S.P.C.N.).
SOLEILLET	T	Physique.	SOULAIRAC	T	Psychophysiologie.
FORTIER	T	Mécanique expérimentale des fluides.	ULRICH	T	Physiologie végétale.
DANJON	T	Astronomie.	MARÉCHAL	T	Optique théorique et appliquée.
LAPORTE	T	Physique générale et Radioactivité.	KIRRMANN	T	Théories chimiques.
JANET	T	Mécanique analytique et Mécanique céleste.	CHADEFAUD	T	Botanique.
PETIT	T	Biologie maritime.	DESTRIAU	T	Physique (M.P.C.).
			M ^{lle} LE BRETON.....	T	Physiologie générale.
			SALEM	T	Mathématiques générales.

LELONG	T	Mathématiques générales.	AIGRAIN	Physique (P.C.B.).
DEVILLERS		Anatomie et Histologie comparées.	BRUSSET	Chimie minérale (P.C.B.).
EHRESMANN	T	Topologie algébrique.	M. LÉVY	Physique théorique.
FRANÇON	T	Physique (S.P.C.N.).	LENORMANT	Physiologie.
GLANGEAUD	T	Géographie physique et Géologie dynamique.	M ^{me} CHAIX	Chimie biologique.
GODEMENT	T	Mathématiques (M.P.C.).	M ^{me} HUREL-PY	Biologie végétale (P.C.B.).
PISOT	T	Calcul des probabilités.	PIAUX	Chimie (P.C.B.).
E. ROCH	T	Géologie.	BRUN	Mécanique expérimentale des fluides.
SCHATZMANN		Astrophysique.	LEDERER	T Chimie biologique.
TERMIER	T	Paléontologie stratigraphique.	M ^{me} DUBREIL	T Mathématiques.
ZAMANSKY	T	Mathématiques générales.	M ^{me} LELONG	T Mathématiques (E.N.S.).
JOLIOT	T	Physique nucléaire et Radioactivité.	BELLAIR	Géologie (S.P.C.N.).
LENNUIER		Physique (P.C.B.).	COTTE	T Physique (M.P.C.).
RIZET		Génétique.	J. E. DUBOIS	T Chimie.
M ^{me} TONNELAT		Théories physiques.	LAMOTTE	Zoologie (E.N.S.).
DIXMIER		Mathématiques (M.P.C.).	MICHEL	T Chimie (S.P.C.N.).
SOUCHAY		Chimie générale (P.C.B.).	OLMER	T Énergétique générale.
			ROUAULT	T Physique (Enseignement)
			GAUTHIER	T Mécanique appliquée.

Secrétaire Général

CH. MONIER.



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41545923_0023

INTRODUCTION

La génétique bactérienne est une discipline relativement récente puisqu'elle ne date que d'une quinzaine d'années. Son développement rapide est dû en grande partie à la découverte par Lederberg et Tatum, en 1946, de phénomènes de recombinaison génétique chez *Escherichia coli*. La découverte de ces phénomènes, dont les caractères étaient ceux d'un véritable processus sexuel, permettait d'établir un rapprochement entre les bactéries et d'autres microorganismes tels que les moisissures ou les levures, qui avaient, quelques années auparavant, éveillé l'intérêt des généticiens.

L'étude des microorganismes a pris, en effet, une place considérable parmi les travaux de génétique. Les raisons en sont évidentes. Elles sont, en partie, d'ordre technique et tiennent à la petite taille de ces organismes, à la rapidité de leur croissance et partant au grand nombre d'individus dont on peut disposer dans un espace restreint. Elles tiennent également à ce que l'étude génétique des microorganismes permet d'obtenir une résolution plus fine à la fois dans l'analyse des structures génétiques elles-mêmes et dans celle des réactions biochimiques qu'elles gouvernent.

Les études de génétique comparée ont conduit à des conclusions analogues à celles qu'avaient atteintes, une décade auparavant, les études de physiologie comparée, à savoir la similitude profonde des structures, des constituants chimiques et des mécanismes en jeu chez les organismes les plus divers. C'est, en particulier, l'étude des microorganismes les plus simples, les bactéries et les virus, qui a mis en évidence le rôle fondamental des acides nucléiques et, en particulier, de l'acide désoxyribonucléique, comme supports universels de l'information génétique.

Les recherches qui font l'objet du présent exposé ont été d'abord entreprises, il y a six ans déjà, pour analyser une situation qui, si elle n'est peut-être pas particulière aux bactéries, n'est encore clairement établie que chez ces microorganismes : l'association héréditaire entre le matériel génétique d'un virus et celui de la cellule-hôte telle qu'elle existe chez les bactéries lysogènes.

On sait, en effet, grâce en particulier aux travaux de J. Bordet, de F.-M. Burnet, de E. et E. Wollman et, surtout, plus récemment

d'André Lwoff et de son école que, chez les bactéries lysogènes, l'information génétique nécessaire à la synthèse d'un certain type de bactériophage est indéfiniment perpétuée sous une forme non infectieuse. Seule, l'analyse génétique semblait devoir être à même d'établir la nature des relations entre le support matériel de cette information génétique et le génome de la bactérie.

Au début de ces recherches, nos connaissances concernant le mécanisme par lequel s'accomplit la recombinaison génétique chez les bactéries étaient encore très rudimentaires, et c'est à cette époque que les travaux de W. Hayes d'une part, de J. et E. Lederberg et de Cavalli d'autre part, devaient mettre en évidence l'existence d'une différenciation sexuelle chez les bactéries.

Il apparut assez rapidement que tout progrès dans l'analyse du déterminisme génétique de la lysogénie dépendait d'une meilleure compréhension du mécanisme de la conjugaison bactérienne, mais qu'en revanche les croisements mettant en œuvre des bactéries lysogènes et des bactéries non lysogènes étaient à même de faciliter considérablement l'analyse du mécanisme de la conjugaison bactérienne. Cette seconde phase de nos recherches a tout entière été accomplie en collaboration avec François Jacob, à qui il m'est particulièrement agréable d'exprimer ici mon amicale gratitude pour les joies et l'enrichissement que m'ont apportés plusieurs années de travail en commun.

La génétique bactérienne n'ayant pas encore fait l'objet de mises au point en français, il nous a semblé utile, dans une première partie, d'en retracer les étapes et les acquisitions essentielles.

Dans une seconde partie seront décrites les caractéristiques des croisements à basse fréquence de recombinaison, telles qu'elles ont été établies d'abord par les travaux de Lederberg et Tatum et de Lederberg, ainsi que les études qui ont pu être faites grâce à ces croisements.

Enfin, une troisième partie est consacrée aux croisements à haute fréquence de recombinaison. Après avoir décrit les caractéristiques de ces croisements, nous étudierons successivement la localisation des caractères génétiques transmis à haute fréquence par les bactéries Hfr H, le déterminisme génétique de la lysogénie pour le bactériophage λ , la localisation chromosomique de divers prophages, l'induction zygotique et ses conséquences génétiques, les rapports entre le transfert de caractères génétiques et leur localisation sur le chromosome des bactéries donatrices, la conjugaison et ses modes d'expression, les étapes que l'on peut reconnaître entre le moment où les bactéries de sexes opposés se rencontrent et celui où sont formés des recombinants génétiques et, enfin, le mécanisme par lequel s'accomplit le transfert génétique au cours de la conjugaison.

Dans un dernier chapitre seront envisagés certains développements auxquels a donné lieu l'étude de la conjugaison bactérienne, les problèmes posés par le caractère incomplet de l'apport génétique des bactéries donatrices aux zygotes, ainsi que le problème des infections latentes à virus considéré à la lumière des résultats obtenus dans l'étude génétique des prophages.

*
* *

Ce travail a été réalisé dans le Service de Physiologie Microbienne de l'Institut Pasteur. Il n'est pas de devoir qui puisse m'être plus agréable que d'exprimer ici ma reconnaissance et mon affection à M. André Lwoff qui m'y accueillit en 1945 et qui, depuis lors, n'a cessé de me prodiguer en toute circonstance son temps, ses critiques pertinentes et le soutien précieux d'une attention toujours en éveil et toujours pleine d'encouragements.

Ma gratitude va aussi à M. Jacques Monod, Chef de Service à l'Institut Pasteur, qui guida mes premiers pas dans la recherche et dont l'amitié, la sollicitude et les conseils ne m'ont jamais fait défaut.

L'atmosphère qu'ils ont su créer autour d'eux, faite à la fois d'enthousiasme, de lucidité intellectuelle et d'amitié, a attiré de l'étranger une pléiade de brillants microbiologistes, contribuant ainsi au prestige de la microbiologie française et donnant à chacun des membres du laboratoire des possibilités inestimables d'enrichissement scientifique.

A mon ami François Jacob, je voudrais redire combien m'a été profitable une collaboration poursuivie pendant plusieurs années. Sans lui ce travail ne serait pas ce qu'il est.

Je n'aurai garde enfin d'oublier ce que je dois à mes collègues du Service de Physiologie Microbienne de l'Institut Pasteur, non plus qu'au personnel technique de ce Service dont la compétence et le dévouement ont beaucoup contribué au développement de nos recherches.

M. Tréfouël, Directeur de l'Institut Pasteur, m'a ouvert les portes de cette Maison à laquelle j'étais de longue date attaché et m'a toujours manifesté une grande bienveillance. Je suis heureux de lui exprimer ici ma respectueuse gratitude.

Je dois beaucoup à la rigueur scientifique et à l'amitié de M. Max Delbrück, Professeur à l'Institut de Technologie de Californie, auprès duquel une bourse de la Fondation Rockefeller m'a permis de travailler pendant deux années.

Nos recherches ont beaucoup profité des contacts scientifiques et amicaux que nous entretenons avec M. William Hayes, Directeur du Laboratoire de Génétique Microbienne du Conseil de la Recherche Médi-

cale Britannique auquel nous devons, en particulier, d'avoir pu aborder l'étude des croisements à haute fréquence de recombinaison.

MM. les professeurs Éphrussi, L'Héritier et Rizet ont bien voulu suivre avec intérêt le développement de ce travail et ne nous ont pas ménagé leurs encouragements. Qu'ils veuillent bien trouver ici l'expression de notre profonde gratitude.

PREMIÈRE PARTIE

LES ÉTAPES
DE LA GÉNÉTIQUE BACTÉRIENNE

CHAPITRE PREMIER

LA VARIABILITÉ DES BACTÉRIES

La génétique, science de l'hérédité et de la variation, est née de l'étude, chez les organismes doués de reproduction sexuée, de l'hybridation entre races ou variétés de la même espèce, différant par certains caractères héréditaires. La définition du gène, unité de recombinaison et de ségrégation, n'a été étendue que plus tard à l'unité de mutation et à l'unité de fonction. Enfin, le rapprochement des données génétiques d'une part, des données cytologiques et cytochimiques d'autre part, a permis le développement et l'épanouissement de la génétique moderne.

Les méthodes de la génétique ont longtemps semblé ne pouvoir être appliquées aux microorganismes en général et aux bactéries en particulier. Les bactéries, en effet, se reproduisent par voie végétative. Leurs petites dimensions les rendaient impropres à l'étude cytologique. Leur faible degré d'organisation ne permettait pas d'établir une distinction entre caractères somatiques et caractères germinaux. Aussi, dans le domaine de la génétique comme dans celui de la physiologie, l'opinion est-elle demeurée longtemps répandue qu'entre les organismes supérieurs et les microorganismes, il existait une différence non seulement de degré, mais de nature, et que les lois qui étaient applicables aux premiers ne l'étaient pas aux seconds. Bactériologistes et généticiens s'accordaient pour penser que les bactéries étaient dénuées d'un appareil génétique différencié et que le déterminisme de leurs propriétés héréditaires relevait d'un mécanisme différent de celui que révélait l'analyse génétique des organismes doués de reproduction sexuée.

Mais du fait de leurs petites dimensions et de la rapidité de leurs divisions, les bactéries sont à même de former, en peu de temps, d'énormes populations dans de très petits volumes. Ces conditions sont éminemment favorables à l'apparition de formes variantes et à leur étude. Ce sont donc les caractères mêmes qui semblaient les exclure de l'analyse génétique qui ont fait des bactéries un matériel de choix pour l'étude de la variation — et c'est de cette étude qu'est née la génétique bactérienne.

On peut, dans l'évolution des idées sur la constitution génétique des bactéries, distinguer arbitrairement trois périodes. La première, qui s'étend sur la seconde moitié du XIX^e siècle, fut surtout consacrée à la description et à l'isolement d'espèces bactériennes. Dans une seconde période, qui s'étend de 1900 à 1940 environ, un grand nombre de variations, portant sur les propriétés les plus diverses des bactéries, furent reconnues et décrites. Enfin, dans une troisième période qui commence autour de 1940, les faits ayant trait à l'hérédité bactérienne ont été coordonnés et rapprochés des connaissances génétiques acquises dans d'autres domaines de la biologie, tandis que la découverte de phénomènes originaux donnait à la génétique bactérienne un essor considérable. Il n'est pas dans notre propos de donner un compte rendu détaillé de cette évolution, mais seulement d'en indiquer les lignes principales. Des précisions sur les travaux les plus anciens peuvent être trouvées dans les revues ou ouvrages suivants : Löhnis, 1921 ; Hadley, 1927 ; Brierley, 1929 ; Arkwright, 1930 ; Marchal, 1932 ; Bulloch, 1938. Quant aux travaux plus récents, ils ont fait l'objet de plusieurs mises au point (Dubos, 1945 ; Luria, 1947 ; Braun, 1947, 1953 ; Lederberg, 1948, 1949a ; Tatum et Perkins, 1950 ; Catcheside, 1951 ; Kaplan, 1952 ; Wyss et Haas, 1953 ; Spiegelman et Landman, 1954 ; Zelle, 1955 ; Cavalli-Sforza, 1957).

I. — LES ESPÈCES BACTÉRIENNES

Les travaux de Pasteur sur les fermentations, puis sur les maladies infectieuses avaient apporté la preuve non seulement de la nature microbienne de ces phénomènes, mais aussi de la spécificité d'action des germes en cause. Les microscopistes, d'autre part, dont le plus éminent fut F. Cohn (1872), avaient observé et décrit un grand nombre de variétés morphologiques de microbes. La préoccupation première des bactériologistes fut donc de cultiver et de décrire les germes qu'ils isolaient et d'établir des relations entre leurs activités biologiques et leur aspect au microscope. En raison du petit nombre de propriétés qui pouvaient à l'époque être utilisées pour caractériser les bactéries, les classifications proposées firent surtout appel à des données morphologiques. Certains, tels Naegeli (1877), Büchner (1882), Zopf (1885) mettaient en doute la possibilité d'une systématique fondée sur des critères morphologiques et défendaient la thèse du *pléomorphisme*. Selon celle-ci, les bactéries peuvent revêtir les formes et même les propriétés les plus diverses, ce qui rend illusoire la définition d'espèces bactériennes. Ce fut le mérite de F. Cohn (1879), puis de Koch (1881) et de son école

de défendre la thèse inverse du *monomorphisme* selon laquelle il existe des catégories bactériennes que l'on peut distinguer et classer par leurs caractères morphologiques et leurs propriétés physiologiques. Grâce aux progrès réalisés dans la technique bactériologique, en particulier par l'introduction des milieux solides qui permettaient d'isoler facilement les germes et de les obtenir en cultures pures, la thèse du monomorphisme reçut rapidement l'accord des bactériologistes. On peut donc considérer que cette première période, qui s'étendit jusqu'au début du *xx*^e siècle, fut surtout consacrée à l'étude descriptive des bactéries et à la recherche des propriétés les plus diverses qui pussent être utilisées pour l'identification des espèces (1).

Le succès du monomorphisme de Koch fut la première étape indispensable, non seulement de la génétique bactérienne, mais aussi de la bactériologie en tant que discipline. Comme beaucoup de doctrines cependant, le monomorphisme se figea en dogme et, après avoir rendu possible la reconnaissance des espèces bactériennes, il se mua en un *fixisme* qui affirmait la constance des formes et l'immuabilité des caractères et déniait aux espèces bactériennes toute possibilité de variation.

II. — LES VARIATIONS BACTÉRIENNES

Plus grand devenait le nombre des espèces bactériennes connues, plus variées les propriétés que l'on était amené à distinguer chez les bactéries, plus nombreuses devenaient aussi les observations de variations dans ces propriétés. Caractères morphologiques, caractères biochimiques, propriétés antigéniques, virulence, il n'est pas une seule des propriétés que l'on peut étudier chez les bactéries qui ne fut reconnue comme étant susceptible de varier. La période qui s'étend entre 1900 et 1940 fut, en ce qui concerne la génétique bactérienne, une période pendant laquelle le dogme du fixisme fut sérieusement remis en question et la variabilité reconnue comme étant l'un des phénomènes les plus importants de la microbiologie.

Cependant, à quelques exceptions près, les variations bactériennes furent objet d'observation plus que d'expérimentation. Aussi les formes les plus diverses en furent-elles décrites et les interprétations proposées n'en furent pas moins nombreuses. On décrivit ainsi des varia-

(1) Les différents systèmes de classification des bactéries qui ont pu être proposés (voir Van Niel, 1946) ne sont, en réalité, que des groupements arbitraires et empiriques qui ont pour but de permettre l'identification des germes. La notion d'espèce bactérienne ne peut, en effet, être assise sur les bases biologiques qui permettent de définir les espèces animales et végétales.

tions lentes ou brusques, réversibles ou irréversibles, spontanées ou induites. La distinction, dans la plupart des cas, dépendait des conditions dans lesquelles les variations étaient observées : selon qu'il s'agissait des propriétés d'une culture ou de colonies isolées, la variation apparaissait lente ou brusque, continue ou discontinue ; si la variation était décelée dans les conditions ordinaires de culture (variation morphologique, par exemple), elle apparaissait comme spontanée ; si, pour la mettre en évidence, il fallait avoir recours à des méthodes particulières (utilisation d'un sucre, par exemple), elle apparaissait au contraire comme étant provoquée.

Très tôt, cependant, des exemples furent décrits de variations brusques et héréditaires portant sur des caractères faciles à reconnaître. C'est le cas des observations rapportées par Beijerinck dès 1900 (et développées dans un article paru en 1912), en particulier celles qui portent sur la coloration des colonies de *Bacillus prodigiosus*. C'est également le cas de la classique souche d'*Escherichia coli mutabile* décrite par Massini (1907) qui, incapable de provoquer la fermentation du lactose, donne cependant naissance à des variants qui possèdent ce pouvoir. Les caractères de rareté, de discontinuité, de stabilité de ces variations apparurent si clairement aux auteurs qui les avaient observées, qu'ils n'hésitèrent pas à les reconnaître comme étant des « mutations » au sens de de Vries. Dès 1912, Dobell définissait la mutation bactérienne comme « un changement permanent, aussi faible soit-il, qui se produit chez une bactérie et qui est dès lors transmis aux générations successives ».

Quant au mécanisme des variations bactériennes, les interprétations les plus diverses et souvent les plus contradictoires en furent données, et l'on peut dire que la littérature de cette époque laisse une impression d'extraordinaire confusion (voir Hadley, 1927 ; Arkwright, 1930). On peut attribuer cette confusion à quelques raisons principales :

1) *L'absence d'une méthode expérimentale convenable.* — La plupart des relations ayant trait aux variations chez les microorganismes étaient plus souvent le fruit d'observations fortuites que d'une expérimentation véritable. De ce fait même, les exemples fournis par des auteurs différents pouvaient difficilement être comparés. Les bactériologistes, accoutumés à travailler avec des cultures, c'est-à-dire avec des populations nombreuses, n'étaient pas à même, le plus souvent, d'établir une distinction entre les propriétés d'une population prise comme un tout et celles des individus qui la composent. Ce n'est que lentement que la notion de clone (c'est-à-dire l'ensemble des individus qui descendent d'un individu unique) se répandit en bactériologie (Rippel, 1929 ; Van Loghem, 1929).

2) **La difficulté d'établir une distinction entre génotype et phénotype.** — Cette difficulté est à l'origine d'interminables discussions entre les partisans des théories mutationnelles et ceux qui ne voulaient voir dans les variations bactériennes qu'une preuve de la plasticité ou de l'adaptabilité physiologiques de ces microorganismes aux variations des conditions de milieu. Certains auteurs doutaient même qu'il fût possible d'établir une telle distinction et considéraient que, chez les bactéries, génotype et phénotype se trouvaient confondus.

3) **L'ignorance où l'on se trouvait de la physiologie des cultures bactériennes en voie de croissance.** — Beaucoup d'observations, surtout morphologiques, étaient faites sur de vieilles cultures. D'où les différentes théories qui faisaient intervenir des « cycles évolutifs » complexes et qui, sous une forme ou sous une autre, faisaient revivre le pléomorphisme de Naegeli. Il fallut attendre les travaux de Henrici (1928) pour fixer les limites des variations « normales » chez les bactéries.

4) **L'emploi de moyens de sélection pour l'isolement de formes variantes.** — Les plus remarquables exemples de variations héréditaires étaient ceux qui faisaient intervenir des *agents de sélection*. Mais ici encore deux groupes d'hypothèses étaient avancés. Selon les uns, le seul effet des agents utilisés était de sélectionner de rares *mutants spontanés* déjà présents dans la culture bactérienne *avant* le traitement. Pour d'autres, c'était le traitement lui-même qui induisait la modification grâce à laquelle une certaine fraction des bactéries pouvait ensuite être sélectionnée par l'agent mis en jeu. Parmi les travaux qui se signalent par leur rigueur expérimentale et qui concluaient à la nature mutationnelle des variations observées, il convient de rappeler ceux de Burnet (1929) (qui établit que, dans certains cas, les bactéries résistantes à des bactériophages différaient du type original sensible par leur constitution antigénique) et celui de Lewis (1934) (qui démontra que, dans une culture d'*E. coli mutabile* en milieu synthétique glucosé, c'est-à-dire en l'absence de lactose, il existait environ 10^{-5} bactérie capable d'utiliser la lactose).

Il semble d'ailleurs que plus se développaient les méthodes de l'analyse génétique et les résultats obtenus par ces méthodes chez les organismes doués de reproduction sexuée, moins il paraissait licite aux généticiens comme aux bactériologistes d'étendre aux bactéries les notions ainsi établies.

Quelques citations permettent d'illustrer la variété des points de vue émis sur la nature des variations chez les bactéries, en même temps que l'évolution des idées dans ce domaine pendant la période qui nous occupe.

« ... Nous devrions considérer comme mutants seulement les variations héréditaires dont les caractères diffèrent de ceux de l'espèce, c'est-à-dire des types normaux caractéristiques de l'organisme en question. Jusqu'à ce que nous puissions déceler les limites et l'étendue des variations cycliques caractéristiques de chaque espèce bactérienne, nous ne pouvons guère reconnaître une mutation lorsqu'elle se produit. On peut sans crainte affirmer qu'à l'heure présente nous ne connaissons aucun exemple non équivoque ou authentique de mutation chez les bactéries... En attendant, il serait souhaitable que le terme de mutation fût banni du vocabulaire du bactériologiste » (Hadley, 1927, p. 270-273).

« ... L'opinion selon laquelle les bactéries, puisqu'elles sont unicellulaires et sans noyau bien défini, sont des formes simples qui peuvent être relativement facilement modifiées par le milieu et transmettre de telles modifications à leur descendance, semble être l'opinion la plus acceptable » (Arkwright, 1930, p. 369).

« ... La distinction entre soma et germe qui domine la compréhension de l'évolution des organismes supérieurs est (chez les bactéries) sans objet. Quand une bactérie se divise, les deux éléments qui résultent de ce partage ne sont que les deux fragments de l'individu primitif... Ce n'est que d'une façon tout à fait conventionnelle que l'on peut parler, dans ce cas, de descendants... Des modifications irréversibles de constitution peuvent se produire spontanément ou être déclenchées par des actions externes. La persistance et la brusquerie d'apparition de telles « mutations » font naturellement penser à des changements factoriels : toutefois, elles pourraient aussi provenir de partages inéquationnels d'autres constituants de la matière vivante. Il ne faut donc employer qu'avec réserve le terme de mutation, appliqué au cas des bactéries, et se rappeler que le mot est ici synonyme de transformation irréversible, sans que nous puissions préciser quelles parties de l'organisme sont plus spécialement modifiées » (Guyénot, 1930, p. 148-152).

« ... Le problème de la variation et de l'hérédité chez les bactéries a atteint un degré de confusion quasi désespéré. Presque toutes les explications possibles ont été avancées et il ne semble y avoir aucune raison d'espérer qu'un quelconque accord d'opinions puisse être atteint dans l'avenir immédiat. Il existe de nombreux défenseurs d'une hérédité de type lamarckien chez les bactéries, tandis que d'autres soutiennent qu'elle est essentiellement darwinienne.

Les auteurs anciens ont considéré la variation chez les souches du type « mutable » comme une mutation au sens de de Vries. Les auteurs plus récents ont expliqué ce phénomène comme étant dû à une ségrégation mendélienne, tandis que d'autres l'ont interprété comme constituant une preuve en faveur de l'existence d'un cycle de développement. Les expériences que j'ai décrites sont en faveur de l'hypothèse selon laquelle la variation, dans certains cas au moins, se produit spontanément et indépendamment des conditions de milieu. Lorsque la variation est favorable, elle peut se maintenir grâce à l'action sélective du milieu... Une variation qui ne serait pas favorable... serait éliminée du fait de l'avantage qu'aurait sur elle le type original » (Lewis, 1934).

« ... En microbiologie, plus que partout ailleurs, il est bien difficile de définir des catégories systématiques en raison du polymorphisme quasi indéfini des bactéries... de leur modification par l'action du milieu de culture, plus ou moins durable et parfois définitive et de l'absence de processus sexuel.

... Les microbes présentent un phénomène dont on ne connaît guère d'équivalent chez les animaux et plantes plus évolués : c'est la modification ou mutation déterminée par l'action plus ou moins prolongée d'un milieu de culture » (Cuénot, 1936, p. 92 et 118).

« ... La variation indépendante de trois caractères différents ne semble pas compatible avec une quelconque théorie de changements cycliques des bactéries. Il semble plus vraisemblable que, dans ces cas au moins, c'est l'hérédité de caractères individuels qui est sujette à des irrégularités.

... Il semble, par conséquent, plus conforme aux données génétiques actuelles d'interpréter l'indépendance dans la variation de plusieurs caractères comme étant le résultat de la modification de gènes individuels, c'est-à-dire de « mutations géniques » (Reed, 1937).

« ... La première étape (dans l'évolution des systèmes génétiques) a dû consister dans la différenciation des gènes qui sont encore indifférenciés chez les virus et les bactéries » (Darlington, 1939, p. 124).

« ... La plupart des variations (que l'on observe chez les bactéries) peuvent être facilement interprétées si l'on fait l'hypothèse qu'une variété de mutations surviennent, chacune avec une fréquence caractéristique. Dans un milieu donné, un ou plusieurs biotypes sont sélectionnés et deviennent les composants dominants de la culture.

... Puisqu'une mutation est généralement réversible, de même les variations bactériennes sont le plus souvent réversibles. Quoique certains bactériologistes aient tendance à croire que le comportement des bactéries est incompatible avec les conceptions actuelles de la génétique et de l'évolution, il y a de bonnes raisons de penser que les bactéries se révéleront être le meilleur matériel dont nous puissions disposer pour des études quantitatives de la mutation et de la sélection naturelle » (Dobzhansky, 1941, p. 189).

« ... Chez les bactéries, comme c'est l'organisme entier qui fonctionne à la fois comme soma et comme germe, l'évolution doit provenir d'une altération de l'ensemble de ce système fonctionnant comme un tout » (Huxley, 1942, p. 131).

Il ressort clairement de ces quelques citations que, si l'existence de variations brusques et héréditaires chez les bactéries était généralement reconnue, c'est la signification de ces variations et leur interprétation en termes génétiques qui demeuraient un objet de controverse.

III. — LES MUTATIONS BACTÉRIENNES ET LEURS CARACTÈRES

Tout progrès dans nos connaissances concernant la génétique des bactéries semblait donc dépendre de deux facteurs principaux :

— l'application à l'étude des variations bactériennes de méthodes expérimentales et de modes de pensée mieux adaptés à cette étude ;

— l'acquisition de données permettant de rapprocher les bactéries d'autres organismes accessibles à l'analyse mendélienne.

On peut situer aux alentours de l'année 1940 le début de cette troisième période qui marqua l'entrée des bactéries dans le domaine de la génétique et qui fit de la génétique bactérienne une discipline dont l'importance n'a depuis lors cessé de croître. Nous ne considérerons ici que les données relatives aux variations bactériennes.

A. — *Les caractères utilisés
dans l'étude des mutations bactériennes.*

Si toutes les propriétés que l'on peut reconnaître chez les bactéries sont susceptibles de varier, il en est qui, plus que d'autres, se prêtent à l'analyse quantitative et qui, de ce fait, ont joué un rôle important dans l'étude des mutations bactériennes.

1) *La résistance aux agents antibactériens.* — Lorsqu'on expose une culture de bactéries à un agent antibactérien (chimique, physique ou biologique), on peut sélectionner des individus qui possèdent la propriété héréditaire de résister à un traitement identique. L'élimination rapide des bactéries du type original sensible permet, non seulement d'isoler, mais aussi de compter ces variants résistants. Une mention particulière doit être faite des bactériophages virulents, dont l'action est particulièrement rapide : dès l'infection, en effet, le métabolisme bactérien est bloqué et la bactérie infectée irrémédiablement vouée à la mort (Cohen et Anderson, 1946 ; Monod et Wollman, 1947).

2) *L'utilisation de sources carbonées.* — La propriété d'utiliser tel ou tel substrat carboné est largement utilisée pour la classification des bactéries. Cette propriété est liée à la présence d'enzymes spécifiques dont l'activité peut, dans certains cas, être aisément recherchée. C'est ainsi que Monod et Audureau (1946) ont pu démontrer que les variants lactose + (Lac⁺) d'une souche d'*E. coli mutabile* ne produisaient d'enzyme (la β -galactosidase) qu'en présence d'un inducteur spécifique de cet enzyme, tel que le lactose. On peut donc, dans ce cas, distinguer le génotype de la souche (le pouvoir de réaliser la synthèse d'un enzyme spécifique) de son expression phénotypique (la synthèse même de l'enzyme).

3) *Le pouvoir de synthétiser des métabolites essentiels* est également un élément important de la taxonomie bactérienne. Les travaux classiques de Knight (1936) et de Lwoff (1938) ont montré que des espèces bactériennes très voisines différaient dans leur pouvoir de synthétiser un ou plusieurs métabolites essentiels. Il y avait tout lieu de penser que ces pertes de fonction étaient l'expression d'une évolution physiologique (Lwoff, 1932, 1943) qui était elle-même la conséquence de mutations. L'un des premiers exemples de variation héréditaire dans un besoin en facteur de croissance est celui d'*Eberthella typhosa* (Fildes, Gladstone et Knight, 1933). Les souches isolées de l'organisme ont besoin de tryptophane pour leur croissance, mais peuvent être « entraînées » à se passer de cet acide aminé après plusieurs pas-

sages dans un milieu synthétique contenant des concentrations faibles du facteur de croissance. On sélectionne ainsi des bactéries n'exigeant plus la présence de tryptophane pour leur croissance, c'est-à-dire capables d'en réaliser la synthèse.

B. — *Les mutations spontanées chez les bactéries.*

L'étude expérimentale des variations héréditaires comporte la mise en œuvre de moyens de sélection. Ainsi se trouve posé le problème de l'origine des variants sélectionnés : s'agit-il de mutants spontanés, préexistants à l'application du traitement ou, au contraire, la variation est-elle induite par le traitement lui-même ? De la solution de ce problème dépendait le développement ultérieur de la génétique bactérienne. L'opinion selon laquelle les variations étaient induites par les modifications du milieu était largement répandue parmi les bactériologistes et, comme a pu l'écrire Luria (1947), la bactériologie se trouvait être la dernière citadelle du Lamarckisme. En démontrant le caractère spontané des mutations bactériennes, on démontrait aussi qu'il n'existe pas de différence de nature entre les variations qui se produisent chez les bactéries et celles que l'on observe chez les organismes accessibles à l'analyse mendélienne.

C'est aux travaux de Luria et Delbrück (1943) que nous devons cette démonstration en même temps que l'introduction en microbiologie de méthodes statistiques adaptées à l'étude de grandes populations. L'analyse de Luria et Delbrück repose sur les considérations suivantes. Si la mutation bactérienne est un événement rare, discontinu et survenant au hasard, on doit s'attendre à ce qu'il existe une grande fluctuation dans le nombre de mutants présents, à un moment donné, dans un grand nombre de *cultures indépendantes*, qui, toutes se sont développées à partir d'un ensemencement faible. Au contraire, parmi divers échantillons d'une même culture, ensemencée dans des conditions identiques, la distribution du nombre de mutants doit être beaucoup plus homogène. Dans l'hypothèse d'une induction par l'agent utilisé pour la sélection, la distribution du nombre des mutants présents dans les différents échantillons doit être indépendante de l'histoire antérieure des cultures. Pour cette étude, Luria et Delbrück avaient choisi un cas particulièrement favorable : l'acquisition de la résistance à un bactériophage virulent.

Ce *test de fluctuation* statistique a été ensuite appliqué avec le même succès à de nombreux exemples de variations (Demerec, 1945 ; Oakberg et Luria, 1947 ; Witkin, 1947 ; Newcombe et Hawirko, 1949). D'autres méthodes plus directes ont été depuis décrites (Newcombe, 1949 ; Leder-

berg et Lederberg, 1952) et, dans tous les cas étudiés, le caractère spontané des mutations bactériennes a pu être démontré. Il convient de signaler cependant que cette démonstration n'a pas emporté la conviction de tous les auteurs dont certains ont continué à soutenir l'hypothèse d'une « adaptation » des bactéries aux modifications des conditions de milieu (Sevag, 1946 ; Hinshelwood, 1946 ; Dean et Hinshelwood, 1953).

Les caractères des mutations spontanées chez les bactéries sont ceux-là mêmes que l'on reconnaît aux mutations chez les organismes plus évolués : changement brusque et discontinu dans une propriété héréditaire, la mutation survient au hasard et porte sur une faible fraction des individus présents dans une population donnée. Chaque mutation survient à un taux caractéristique et affecte spécifiquement un (ou parfois plusieurs) caractères phénotypiques. Lorsque des propriétés différentes peuvent être modifiées par des mutations différentes, on peut démontrer que ces mutations surviennent indépendamment les unes des autres et qu'en particulier la probabilité pour qu'une mutation A se produise n'est pas modifiée par le fait que des mutations B ou C se sont ou ne se sont pas déjà produites (Demerec et Fano, 1945). Enfin, les mutants formés sont, en général, aussi stables que les types dont ils proviennent.

Ainsi les mutations des bactéries ont le même caractère factoriel que les mutations qui se produisent chez les organismes doués de reproduction sexuée. Il y avait donc tout lieu de penser que, chez les bactéries comme chez les organismes supérieurs, les mutations affectent des déterminants héréditaires qui sont eux-mêmes factoriels.

C. — *Les mutations induites et la génétique physiologique.*

L'évolution de la génétique bactérienne fut profondément influencée par les progrès réalisés dans d'autres domaines de la génétique, en particulier de la génétique d'autres microorganismes. L'existence de phénomènes sexuels typiques chez des moisissures telles que l'Ascomycète *Neurospora* (Dodge, 1935) et chez les levures (Winge, 1935) permit en effet d'étendre l'analyse génétique à des organismes beaucoup plus proches des bactéries que ne l'étaient les objets classiques d'étude des généticiens. On peut, grâce à l'emploi d'agents mutagènes physiques (rayons X, lumière U.-V.) ou chimiques (ypérités), induire chez ces microorganismes des mutations diverses, en particulier des mutations portant sur des propriétés métaboliques. Beadle et Tatum (1941) ont pu ainsi isoler une grande variété de mutants de *Neurospora crassa*, déficients dans leur pouvoir de synthétiser des métabolites essentiels

(mutants « biochimiques ») et montrer que chaque perte de fonction était sous la dépendance d'un déterminant génétique spécifique.

Or, les agents qui sont mutagènes chez les organismes accessibles à l'analyse mendélienne sont également mutagènes pour les bactéries (Cro-land, 1943 ; Gray et Tatum, 1944 ; Roepke, Libby et Small, 1944). On peut, en particulier, induire chez les bactéries les mutations biochimiques les plus diverses. Les mutants déficients ainsi produits sont en tous points comparables aux mutants de *Neurospora* dont le « blocage » génétique porte sur les mêmes réactions de biosynthèse (Tatum, 1946).

La possibilité d'obtenir assez facilement une grande variété de mutants biochimiques a rendu également possible l'étude systématique des relations qui existent entre les mutations et leurs effets physiologiques. Déjà les travaux de la génétique physiologique, en particulier ceux d'Ephrussi et Beadle (1937) sur la synthèse des pigments oculaires de la drosophile, avaient montré que certaines mutations ont pour effet d'empêcher la formation de substances chimiques spécifiques. Les travaux de Beadle et Tatum et de leur école ont considérablement étendu nos connaissances dans ce domaine et donné naissance à une véritable « génétique biochimique » (Beadle, 1945). Une mutation biochimique donnée a pour conséquence d'interrompre, en un point précis, la chaîne de réactions qui conduit à la biosynthèse d'un métabolite essentiel particulier. Cette interruption est, dans la plupart des cas, liée à l'absence d'un certain enzyme spécifique (voir Horowitz et Fling, 1956). Il existe donc une relation étroite entre gènes et enzymes, telle que chaque gène semble gouverner la synthèse d'un enzyme particulier.

Grâce aux progrès réalisés dans les méthodes de sélection des mutants biochimiques (Davis, 1950a ; Lederberg, 1950a ; Adelberg et Myers, 1953), les bactéries constituent un matériel particulièrement favorable pour les études de ce type (Davis, 1950a, 1952).

Les méthodes de la génétique biochimique ont beaucoup contribué à élucider les voies de la biosynthèse d'un grand nombre de métabolites essentiels : acides aminés, vitamines, bases puriques et pyrimidiques. Elles ont aussi permis d'aborder l'étude des relations entre la structure des déterminants génétiques et leur fonction.

Les caractères mêmes des mutations bactériennes, le fait que des mutations qui affectent les mêmes propriétés se retrouvent à la fois chez les bactéries et chez les organismes qui se prêtent à l'analyse mendélienne, le fait enfin que ces mutations puissent être induites par les mêmes agents mutagènes, conduisent à penser que non seulement les propriétés héréditaires sont, dans les deux cas, sous la dépendance de déterminants héréditaires factoriels, mais que ces déterminants doivent être de même nature et doués de propriétés analogues.

IV. — L'APPAREIL GÉNÉTIQUE DES BACTÉRIES

Chez les animaux et les végétaux, les déterminants génétiques des caractères mendéliens sont localisés sur les chromosomes qui sont eux-mêmes contenus dans les noyaux cellulaires. Un constituant essentiel des chromosomes est l'acide désoxyribonucléique (A.D.N.) auquel ils doivent leur affinité particulière pour les colorants basiques et qui est coloré spécifiquement par la technique de Feulgen.

Comme beaucoup de problèmes cytologiques, le problème du noyau bactérien a été l'objet de controverses passionnées (voir Dubos, 1945). On peut mettre en évidence chez les bactéries, soit par la coloration de Feulgen, soit par celle de Piekarski, des structures qui ont les caractères de formations nucléaires (Badian, 1933 ; Piekarski, 1937 ; Delaporte, 1939 ; Robinow, 1942). Ces structures renferment pratiquement la totalité de l'A.D.N. des bactéries et disparaissent sous l'action de la désoxyribonucléase (Boivin, Tulasne, Vendrely et Minck, 1947). Leur division est coordonnée avec celle des bactéries et leur nombre dépend, pour une espèce donnée, des conditions physiologiques. Des recherches récentes ont montré qu'il était possible de suivre l'évolution de ces structures sur des bactéries en voie de croissance par examen direct au microscope à contraste de phase (Tulasne, 1949 ; Mason et Powelson, 1955). Quoique, pour certains auteurs, le terme de noyau devrait être réservé à des structures ayant certaines caractéristiques morphologiques (voir Robinow, 1956), il semble plus justifié de donner de ce terme une définition fonctionnelle et d'appeler noyaux bactériens les structures qui, chez les bactéries, sont les équivalents fonctionnels des noyaux cellulaires des organismes plus évolués.

Outre que les noyaux bactériens sont, comme ceux des autres cellules, essentiellement constitués d'A.D.N., de nombreux arguments indiquent qu'ils contiennent les déterminants héréditaires des bactéries. Certains de ces arguments seront examinés dans le chapitre suivant. Qu'il suffise de rappeler ici les relations que l'on peut établir entre les délais d'expression ou de ségrégation de certaines mutations et le nombre moyen de noyaux par bactérie. La plupart des bactéries étant plurinucléées, on doit, en effet, s'attendre (si le noyau est bien le siège des facteurs héréditaires) à ce que des clones purs de bactéries mutées n'apparaissent qu'après un certain délai lorsque, par le jeu des divisions nucléaires et bactériennes, les noyaux porteurs de la mutation considérée auront ségrégué des autres noyaux de la bactérie. C'est ce que montrent, en particulier, les expériences de Witkin (1951) qui a

étudié la ségrégation de la mutation induite lactose⁻ chez des populations d'*E. coli* dont le nombre moyen de noyaux par bactérie était variable.

*
* *

Les bactéries ne constituent donc pas, comme il était généralement admis il y a encore une quinzaine d'années, un groupe primitif chez lequel soma et germe seraient confondus. Elles possèdent un appareil nucléaire comparable à celui des cellules des autres organismes et contenant, comme lui, les déterminants des caractères héréditaires. Ces déterminants possèdent l'individualité et la spécificité que l'on reconnaît aux gènes des organismes supérieurs. Ils gouvernent des caractères phénotypiques dont le déterminisme biochimique a pu, dans de nombreux cas, être analysé avec précision. L'étude des mutations bactériennes a ainsi contribué à démontrer la généralité des mécanismes génétiques et des réactions métaboliques qu'ils commandent.

Le domaine de la génétique a d'ailleurs été étendu au-delà même du monde bactérien. Chez des virus, tels que les bactériophages, on peut observer, comme chez les bactéries, des mutations portant sur les caractères héréditaires les plus divers (Luria, 1945 ; Hershey, 1946). Ces variations héréditaires présentent toutes les caractéristiques générales des mutations. On doit, par conséquent, admettre qu'elles sont, elles aussi, sous la dépendance de déterminants héréditaires factoriels.

Ainsi, chez tous les « organismes », quels que soient leur degré d'organisation et leur niveau évolutif, les propriétés héréditaires sont sous la dépendance de déterminants factoriels dont la nature, les relations réciproques et le mode de répartition au cours de la reproduction doivent être fondamentalement semblables puisqu'ils doivent assurer à la fois la remarquable stabilité des propriétés héréditaires de ces organismes et leur variabilité.

CHAPITRE II

LES MODES DE TRANSFERT DE CARACTÈRES HÉRÉDITAIRES CHEZ LES BACTÉRIES ET LE PROBLÈME GÉNÉTIQUE DE LA LYSOGÉNIE

L'étude des variations bactériennes a longtemps souffert de l'impossibilité où l'on se trouvait d'analyser ces phénomènes par les méthodes de la génétique, c'est-à-dire par des expériences d'hybridation. On peut dire qu'inversement la confusion qui régnait dans les idées concernant la variabilité bactérienne a considérablement retardé la mise en évidence et l'interprétation des phénomènes d'échanges de caractères génétiques chez les bactéries.

Nous nous proposons de décrire brièvement, dans ce chapitre, les différents phénomènes d'échange ou de transfert de caractères génétiques. Sans égard à l'ordre historique, nous rapporterons d'abord la découverte de la recombinaison génétique chez les bactéries. Puis, nous examinerons les différentes modalités de transfert et d'acquisition de caractères génétiques par le milieu extérieur. Enfin, et pour des raisons qui seront indiquées, la dernière partie de ce chapitre sera consacrée aux bactéries lysogènes et au problème génétique qu'elles soulèvent.

I. — LA RECOMBINAISON GÉNÉTIQUE CHEZ LES BACTÉRIES

Si l'étude des mutations bactériennes permet d'établir qu'il existe une homologie entre les déterminants héréditaires des caractères bactériens et les gènes des organismes supérieurs, elle ne permet de tirer aucune conclusion quant aux rapports éventuels qu'auraient entre eux ces déterminants génétiques. Il y a cependant toute raison de penser

que l'organisation de l'appareil génétique des bactéries ne saurait être fondamentalement différente de celle qui existe chez les autres organismes.

Les caractères héréditaires des bactéries sont aussi stables que ceux d'organismes plus évolués. Si la variabilité des bactéries a pu donner l'illusion d'être plus grande que celle d'autres organismes, c'est qu'il n'était pas tenu compte de la taille des populations mises en jeu, ni des possibilités de sélection infinies que permettent les modifications, même légères, des conditions de culture. En réalité, les taux de mutation mesurés chez les bactéries sont du même ordre de grandeur que ceux que l'on peut mesurer chez d'autres organismes. La stabilité des caractères bactériens ne peut s'expliquer que s'il existe un mécanisme qui assure une répartition régulière des déterminants génétiques à chaque division et dont la précision serait égale à celle de la mitose. Il est difficile d'imaginer un modèle qui remplisse mieux ces conditions que celui même qui nous est offert par les autres systèmes biologiques : l'arrangement régulier des déterminants génétiques sur une ou plusieurs structures dont la duplication et la "ségrégation" se produisent régulièrement à chaque division cellulaire. L'opinion a été quelquefois émise que les bactéries seraient comparables à des « sacs de gène ». Il convient cependant de remarquer que tout modèle selon lequel les déterminants génétiques se trouveraient répartis au hasard se heurte *a priori* à des difficultés sérieuses s'il doit à la fois rendre compte de la stabilité des caractères bactériens et de leur variabilité. La présence de chaque déterminant génétique en un nombre limité d'exemplaires (un exemplaire par noyau, par exemple) permettrait la variation mais n'assurerait pas la stabilité. Au contraire, l'existence de chaque déterminant génétique en un grand nombre d'exemplaires assurerait la stabilité, mais serait peu compatible avec les caractères que l'on reconnaît aux mutations bactériennes.

Une réponse à ce problème ne pouvait en définitive être apportée que par des expériences d'hybridation, expériences qui, jusqu'en 1946, ne pouvaient être réalisées chez les bactéries. Ce n'est pas cependant que l'existence de phénomènes sexuels chez les bactéries n'ait été recherchée, décrite ou même imaginée, le plus souvent sur la simple observation de préparations colorées (voir Bisset, 1950 ; Hutchinson et Stempfen, 1954). Même lorsque les images pouvaient à bon droit faire penser à des figures de conjugaison ou de fusion, l'absence de données génétiques ne permettait pas d'apprécier leur véritable signification. Des essais de croisements ont été tentés par Sherman et Wing (1937), puis par Gowen et Lincoln (1942) qui ont clairement énoncé les conditions et les résultats possibles d'une expérimentation destinée à démontrer l'existence de processus sexuels chez les bactéries. Ces tentatives échouè-

rent cependant. Elles n'auraient pu d'ailleurs déceler que des recombinaisons génétiques fréquentes, car les caractères utilisés ne se prêtaient pas à la sélection de recombinants génétiques éventuels.

C'est à Lederberg et Tatum (1946a et b) que nous devons la découverte de phénomènes de recombinaison génétique chez les bactéries et il convient de rappeler que cette importante découverte fut le fruit d'une recherche délibérée et non d'observations fortuites. Les principes qui guidèrent Lederberg et Tatum sont les suivants.

1) S'il existe des phénomènes de recombinaison génétique chez les bactéries, ces phénomènes sont vraisemblablement rares, comme le laissent supposer, d'une part, le faible nombre et le caractère peu convaincant des observations microscopiques et, d'autre part, l'échec des tentatives antérieures. Pour mettre en évidence la formation de rares recombinants génétiques, il faut donc les sélectionner. Il faut également être à même de les distinguer de mutations spontanées.

2) L'utilisation de souches, différant par leurs besoins en facteurs de croissance, semble particulièrement favorable à la sélection d'éventuels recombinants génétiques. On peut, en effet, ainsi qu'il a été indiqué, induire chez les bactéries une grande variété de déficiences métaboliques. Par des traitements mutagènes successifs, on peut accumuler, chez une même souche, plusieurs déficiences métaboliques. Ces caractères sont en général stables et différents caractères nutritionnels réversent vers la forme sauvage d'une manière indépendante (Tatum, 1946). La mutation simultanée de deux caractères est donc hautement improbable puisqu'elle se produirait avec une fréquence de l'ordre de 10^{-14} . Enfin, les travaux de Beadle et Tatum ont montré que, chez le champignon *Neurospora crassa*, chaque caractère nutritionnel est sous la dépendance d'un déterminant génétique spécifique et que le pouvoir de synthétiser un métabolite essentiel donné est dominant sur l'incapacité à réaliser cette synthèse.

La souche choisie par Lederberg et Tatum fut un *Escherichia coli* typique, étiqueté K12, qui, pendant de nombreuses années, avait servi de souche de travaux pratiques aux étudiants de l'Université Stanford. Cette souche, qui se développe dans un milieu synthétique simple, dépourvu de facteurs de croissance, avait déjà été employée par Tatum (1945) pour ses recherches sur l'induction de mutations biochimiques chez les bactéries.

Les premières souches utilisées par Lederberg et Tatum furent des mutants doubles ou triples, c'est-à-dire des souches chez lesquelles plusieurs mutations biochimiques avaient été induites par des traitements mutagènes successifs. L'une de ces souches avait besoin de biotine (B^-), de phényl-alanine (Ph^-) et de cystine (C^-), une autre de thréonine (T^-),

de leucine (L^-) et de vitamine B_1 (B_1^-) (1). Lorsque des bactéries de l'une ou de l'autre souche étaient étalées en grand nombre (10^8) sur des boîtes de Petri renfermant un milieu synthétique gélosé minimum, dépourvu de facteurs de croissance, on n'observait, bien entendu, l'apparition d'aucune colonie. Lorsqu'au contraire des quantités égales de bactéries de ces deux souches étaient étalées ensemble sur une même boîte de milieu minimum, il se formait une centaine de colonies. Ces colonies étaient constituées de bactéries que l'on pouvait indéfiniment repiquer sur un milieu synthétique minimum, c'est-à-dire de bactéries *prototrophes*, selon la nomenclature proposée par Ryan et Lederberg (1946) (Par opposition, les mutants qui ont besoin de facteurs de croissance sont appelés *auxotrophes*).

En utilisant une symbolique factorielle, la souche sauvage, qui synthétise tous ses métabolites essentiels, est $B^+Ph^+C^+T^+L^+B_1^+$ et les deux mutants polyauxotrophes sont respectivement $B^-Ph^-C^-T^-L^-B_1^-$ et $B^+Ph^+C^+T^-L^-B_1^-$. Les colonies prototrophes formées après mélange sont apparemment constituées d'individus $B^+Ph^+C^+T^+L^+B_1^+$, chez lesquels les caractères génétiques des types parentaux ont été recombines, c'est-à-dire de *recombinants génétiques* (fig. 1). Lorsque la même expérience était répétée, mais en ne sélectionnant plus que pour deux caractères de chaque type parental au lieu de trois (les caractères $B^+Ph^+T^+L^+$, par exemple), on observait, parmi les recombines génétiques formés (recombines $B^+Ph^+T^+L^+$), la ségrégation des caractères non sélectionnés C et B_1 (Lederberg et Tatum, 1946a et b).

Quant au mécanisme de ce réassortiment de caractères génétiques, il fut rapidement démontré qu'il s'agissait d'un véritable processus sexuel. Non seulement la recombinaison génétique ne pouvait s'observer que si les bactéries des deux souches en présence étaient intactes et vivantes (Tatum et Lederberg, 1947), mais encore il était nécessaire qu'elles entrassent réellement en contact (Davis, 1950b). Les hypothèses faisant intervenir une association plus ou moins persistante des matériels génétiques des deux types parentaux telles que la formation d'agrégats, d'hétérocaryons, ou de diploïdes hétérozygotes furent rapidement éliminées. En effet, ainsi qu'il sera indiqué dans le chapitre suivant, lorsque les deux souches mises en jeu dans un croisement diffèrent par un certain nombre de caractères génétiques qui n'interviennent pas dans la sélection de recombines, ces caractères ségrégent parmi les recombines et l'on peut démontrer l'existence de relations de liaison génétique (linkage) entre ces caractères et les caractères utilisés pour la

(1) Comme il est d'usage en génétique bactérienne, on symbolise le pouvoir de réaliser la synthèse d'un métabolite essentiel donné par le signe + et la perte de ce pouvoir par le signe —.

sélection des recombinants (Tatum et Lederberg, 1947 ; Lederberg, 1947).

La recombinaison génétique est donc bien la conséquence d'une conjugaison entre bactéries de génotypes différents, conjugaison suivie d'un processus comparable au crossing-over et de la ségrégation de bactéries hybrides qui possèdent des propriétés héritées de chacun des deux types parentaux.

Le phénomène découvert par Lederberg et Tatum apportait par consé-

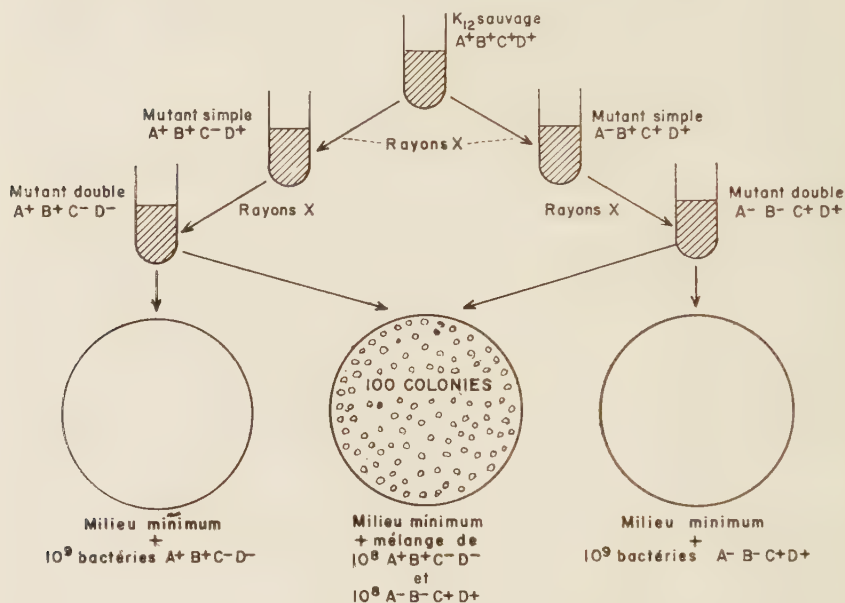


FIG. 1. — Représentation schématique de l'expérience de Lederberg et Tatum.

quent la preuve que les déterminants génétiques des bactéries ont, au cours de la recombinaison génétique, le même caractère factoriel que révélait déjà l'étude de la variabilité et qu'ils sont disposés le long d'une structure comparable aux chromosomes des cellules des organismes supérieurs.

L'année même où fut découverte la recombinaison génétique chez les bactéries, des phénomènes analogues furent décrits chez les bactériophages (Delbrück et Bailey, 1946). Ainsi qu'il a été indiqué dans le chapitre précédent, on observe chez les bactériophages des mutations qui affectent l'une quelconque des propriétés que l'on est à même de reconnaître chez ces virus : aspect ou dimension des plages, spectre d'activité, etc. Si des bactéries sensibles sont infectées avec deux types

apparentés de bactériophages qui diffèrent par deux caractères génétiques, ces bactéries libèrent non seulement des phages des deux types infectants, mais également des phages de types recombinants. C'est ainsi que dans une infection mixte par des phages T_2rh^+ et T_2r^+h (où r et r^+ représentent des différences dans l'aspect des plages formées et h et h^+ des différences dans l'activité des bactériophages sur deux hôtes différents), on obtient des phages des deux types parentaux et les types recombinants T_2rh et $T_2r^+h^+$. Les proportions dans lesquelles apparaissent ces types recombinants permettent d'évaluer la distance qui sépare les déterminants génétiques considérés. On peut ainsi, dans le cas des bactériophages, comme dans celui des bactéries, dresser des cartes génétiques en unités de recombinaison (Hershey et Rotman, 1948).

Ainsi, chez les organismes en apparence les plus simples, chez les bactéries et même chez les virus, se retrouvent les propriétés fondamentales que l'on reconnaît au matériel héréditaire des animaux et des plantes : le caractère factoriel et autonome des déterminants génétiques, et l'organisation de ces déterminants sur des structures linéaires.

II. — LE TRANSFERT DE CARACTÈRES HÉRÉDITAIRES CHEZ LES BACTÉRIES

Longtemps avant que ne fût découverte l'existence de la conjugaison bactérienne, certains exemples de transmission de propriétés héréditaires chez les bactéries avaient déjà été décrits (voir Lederberg, 1948). Dès 1909, Kuhn et Woithe désignaient, sous le terme de para-agglutination, l'acquisition, par des souches d'*E. coli*, de la propriété d'être agglutinées par des sérums anti-*Shigella* ou anti-*Salmonella* (voir Kuhn et Ebeling, 1916). Dans certains cas, la transmission de caractères d'une souche de bactéries à une autre ne s'observait que dans des cultures mixtes (Wollman et Wollman, 1925) ; dans d'autres cas, le phénomène se produisait lorsque l'une des souches avait été cultivée dans un filtrat de l'autre souche (Burnet, 1925 ; Cantacuzène et Bonciu, 1926 ; Legroux et Genevray, 1933).

On sait, d'autre part, que certaines souches de bactéries, dites bactéries lysogènes, possèdent la propriété héréditaire de produire des bactériophages actifs sur d'autres souches bactériennes. Or, ces bactériophages peuvent, par infection de bactéries sensibles, donner naissance à de nouveaux systèmes lysogènes (Bordet, 1925 ; Bail, 1925). Il s'agit bien, dans ce cas, d'une propriété héréditaire acquise par infection.

Dès 1925, Eugène Wollman proposait de « désigner l'ensemble de ces phénomènes d'acquisition de caractères par une sorte de contagion,

par le terme de *parahérédité* ». Cette « transmission de caractères d'une cellule à une autre par le milieu extérieur » lui semblait indiquer que « les supports ou facteurs des caractères envisagés doivent se reproduire dans les cellules impressionnées puisque les propriétés acquises par celles-ci se conservent au cours de nombreuses générations » (Wollman, 1927).

Les recherches de ces quinze dernières années, en précisant les mécanismes par lesquels peut s'accomplir le transfert de caractères génétiques chez les bactéries, ont vérifié le bien-fondé de cette conception.

A. — *La transformation.*

L'exemple le plus remarquable de transfert de caractères héréditaires devait être donné par Griffith en 1928. Ayant injecté simultanément à des souris des pneumocoques vivants non encapsulés, donc non virulents, provenant d'une souche de type II, et des pneumocoques encapsulés de type III tués par la chaleur, cet auteur eut la surprise de voir les animaux ainsi traités succomber à une septicémie mortelle. Du sang de ces animaux, il isola des pneumocoques vivants, encapsulés, de type III, c'est-à-dire ayant le type antigénique des germes tués.

Ces résultats furent confirmés et étendus par de nombreux auteurs, en particulier par Dawson et Sia (1931) qui reproduisirent cette transformation *in vitro*, et par Alloway (1932) qui parvint à l'obtenir, non plus avec des bactéries tuées, mais avec des extraits de bactéries. Il fallut cependant attendre les travaux d'Avery, MacLeod et McCarty (1944) pour qu'apparût la portée réelle de ce phénomène et qu'en fût élucidé le mécanisme. Ces auteurs montrèrent, en effet, que la transformation du pneumocoque pouvait être provoquée par des préparations purifiées d'acide désoxyribonucléique (A.D.N.) extrait des bactéries encapsulées donatrices. Les préparations de « principe transformant » étaient actives à des concentrations extrêmement faibles. Non seulement les bactéries « transformées » transmettaient à leur descendance leurs nouvelles propriétés antigéniques mais, à partir de cultures de telles bactéries, il était possible d'extraire un A.D.N. capable à son tour d'induire la transformation d'autres souches non capsulées. « Il est donc évident, écrivaient les auteurs de cette découverte, que c'est non seulement le matériel capsulaire qui est reproduit au cours des générations successives, mais que le facteur primaire qui gouverne la formation et la spécificité de ce matériel capsulaire est lui aussi reproduit lors de la multiplication bactérienne. »

Cette découverte eut un retentissement considérable. C'était la pre-

mière fois, en effet, qu'était mis en évidence le rôle spécifique d'un acide nucléique dans un phénomène biologique et l'on sait l'importance que cette notion a prise depuis. Quant à la signification même du phénomène, elle n'apparut pas tout d'abord. On se représentait mal la relation qui pouvait exister entre la synthèse d'un polysaccharide capsulaire et celle d'un acide nucléique. La transformation du pneumocoque fut comparée aux mutations induites, à la reproduction des virus, jusqu'à ce que Muller, en 1947, en proposât l'interprétation suivante : « ... des fragments de chromosomes... ayant pénétré dans les bactéries non capsulées pourraient y prendre racine, peut-être après que se soit produite une sorte de crossing over avec les chromosomes de l'hôte. »

Depuis le travail fondamental de Avery, MacLeod et McCarty, la transformation a fait l'objet de nombreuses recherches (voir revues de Austrian, 1952 ; Ephrussi-Taylor, 1955 ; Hotchkiss, 1955). La variété des caractères qui peuvent être transmis d'une souche donatrice à une souche réceptrice, par de l'A.D.N. extrait des bactéries donatrices, s'est étendue, ainsi que le nombre des espèces bactériennes chez lesquelles de telles transformations ont pu être réalisées. Lorsque bactéries donatrices et bactéries réceptrices diffèrent par plusieurs caractères héréditaires, l'acquisition de chacun des caractères des bactéries donatrices se produit de manière indépendante. Ce n'est que dans des cas exceptionnels que des exemples de linkage ont pu être décrits (Hotchkiss et Marmur, 1954). La transformation semble donc correspondre à un transfert de petits segments génétiques.

Les données concernant le rôle des acides nucléiques, et plus particulièrement de l'A.D.N. dans le déterminisme des caractères héréditaires, se sont considérablement développées depuis la découverte originale d'Avery et de ses collaborateurs (voir *The chemical basis of heredity*, 1957). L'A.D.N., constituant universel de l'appareil génétique des animaux et des plantes, est aussi l'un des constituants majeurs de certains virus, en particulier des bactériophages. Les expériences de Hershey et Chase (1952) ont démontré que lorsque des bactéries sont infectées par le bactériophage virulent T_2 , seul l'A.D.N. des phages infectants pénètre dans les bactéries et assure par conséquent à lui seul la multiplication du bactériophage et la perpétuation de sa spécificité génétique.

Ainsi, par un paradoxe dont l'évolution des sciences offre maints exemples, c'est l'étude des bactéries et des virus, organismes que l'on avait cru pendant si longtemps dépourvus d'un appareil génétique véritable, qui a révélé le rôle des acides nucléiques comme supports de l'information génétique.

B. — *La lysogénisation.*

Un second mode d'acquisition de propriétés héréditaires par infection est l'établissement de systèmes lysogènes. Les bactériophages capables d'établir de tels systèmes sont appelés tempérés (Jacob, Lwoff, Siminovitch et Wollman, 1953). Lorsque des bactéries sensibles sont soumises à l'action d'un bactériophage tempéré (lui-même issu d'une souche lysogène), une fraction des bactéries se lyse tandis qu'une autre fraction survit et devient à son tour lysogène. Une fois établi, le caractère lysogène est extrêmement stable, aussi stable que les autres propriétés héréditaires de la souche bactérienne considérée (Bordet, 1925 ; Bail, 1925).

Les souches lysogènes obtenues par lysogénisation de bactéries sensibles ont les mêmes propriétés que les souches lysogènes dites naturelles. Elles perpétuent héréditairement le pouvoir de produire du phage, et le type de phage qu'elles sont capables de produire est celui-là même qui a servi à la lysogénisation. Elles ont également acquis la résistance spécifique ou *immunité* à l'encontre du type de phage qui a servi à les lysogéniser, immunité qui est liée non pas à une incapacité à adsorber ce phage, mais à une incapacité à le reproduire.

Ainsi, la lysogénisation aboutit à une association stable entre un virus, le bactériophage, et une bactérie, le système lysogène ainsi constitué fonctionnant dorénavant comme une seule unité de reproduction. On comprend dès lors le rapprochement souvent opéré entre la lysogénisation et la transformation.

Production de phage et immunité à l'égard du phage homologue sont des propriétés communes à toutes les souches lysogènes car elles sont l'expression même de la lysogénie (voir Lwoff, 1953 ; Jacob, 1954). Dans certains cas, cependant, la lysogénisation a pour conséquence l'acquisition de propriétés dont les relations avec la lysogénie n'apparaissent pas de prime abord : modifications dans l'aspect des colonies (den Dooren de Jong, 1931 ; Ionesco, 1953), dans la morphologie des bactéries (Wollman et Wollman, 1938). D'autres exemples plus frappants encore ont été décrits depuis quelques années, tels que la synthèse d'antigènes de surface (Iseki et Sakai, 1953) ou la production de toxine chez le bacille diphtérique (Freeman, 1951). Dans tous les cas, la lysogénisation par certains types de bactériophages tempérés a pour conséquence l'acquisition par les bactéries de propriétés héréditaires nouvelles et il existe une corrélation complète entre l'acquisition de ces propriétés et l'établissement de la lysogénie.

Les problèmes posés par les bactéries lysogènes seront examinés avec

plus de détails dans la suite de ce chapitre. La lysogénie, en effet, représente une situation dans laquelle le matériel génétique d'un virus et celui de la bactérie hôte sont intégrés. Il est donc d'un intérêt évident d'étudier quelle peut être la nature de cette intégration.

C. — *La transduction.*

Plus récemment, un troisième mode de transfert de caractères génétiques par le milieu extérieur a été décrit par Zinder et Lederberg (1952) sous le nom de *transduction*. Désireux d'étendre à des espèces autres qu'*E. coli* la démonstration de phénomènes de recombinaison génétique, Zinder et Lederberg fixèrent leur choix sur un groupe de souches de *Salmonella typhi murium*. Lorsque certaines souches, qui différaient entre elles par des caractères nutritionnels, étaient mélangées, on observait la formation de recombinants génétiques. Contrairement à ce qui se produit avec *E. coli* K12, cependant, le phénomène pouvait être reproduit lorsque des bactéries de l'une des souches étaient mises en suspension dans des filtrats de culture. Il fut ainsi démontré que l'agent responsable de ce transfert de caractères génétiques n'était autre qu'un bactériophage tempéré et le phénomène fut appelé transduction.

Une grande variété de caractères génétiques a pu ainsi être transmise de bactéries donatrices à bactéries réceptrices : caractères nutritionnels, utilisation de glucides, résistance à des inhibiteurs, motilité, antigènes de surface, etc. Seuls peuvent être transmis à des bactéries réceptrices données des caractères génétiques que possédaient les bactéries donatrices, c'est-à-dire les bactéries ayant servi à préparer un lysat du phage transducteur. La fréquence avec laquelle un caractère donné des bactéries donatrices peut être transduit est faible (une particule de bactériophage sur un million peut transmettre ce caractère), et des caractères différents sont, en général, transmis de manière indépendante. Cependant, dans certains cas, on a observé le transfert simultané de plusieurs caractères (Stocker, Lederberg et Lederberg, 1953).

Transduction et lysogénisation sont deux phénomènes distincts. Certains types seulement de bactériophages tempérés sont doués de pouvoir transducteur. Il est, d'autre part, possible de réaliser des transductions sans que les bactéries transduites soient simultanément lysogénisées (Zinder, 1953).

On peut donc se représenter le phénomène de transduction de la manière suivante : au cours de la multiplication de certains phages tempérés, de petits segments de matériel génétique bactérien sont englobés au hasard dans les particules de bactériophage produites. Lorsque

ces bactériophages infectent des bactéries d'un génotype différent (bactéries réceptrices), les segments génétiques des bactéries donatrices qui ont été introduits par l'infection peuvent « se recombiner » avec le matériel génétique des bactéries réceptrices. La dimension des segments qui peuvent être ainsi transportés par un bactériophage est faible et limitée vraisemblablement par la dimension même du phage vecteur. C'est pourquoi différents caractères génétiques sont en général transuits indépendamment les uns des autres.

La transduction de caractères génétiques a pu être étudiée chez un grand nombre de *Salmonella* (Lederberg et Edwards, 1953), chez les *Shigella* et les *Escherichia coli* (Lennox, 1955). Dans le cas particulier de la souche K12 d'*E. coli*, on peut comparer les données génétiques fournies par la conjugaison avec celles de la transduction. On peut ainsi démontrer que des caractères que l'on sait être liés peuvent être transuits simultanément (Lennox, 1955 ; Jacob, 1955). La transduction permet donc d'analyser avec précision la structure fine de courts segments génétiques (Demerec et Demerec, 1956 ; Demerec, 1956 ; Hartmann, 1957).

A côté de ce mode de transduction, généralisé et non spécifique pourrait-on dire, un autre mode de transduction, spécifique celui-là, a récemment été décrit (Morse, Lederberg et Lederberg, 1956) et sera examiné plus loin.

.
.
.

Trois modes différents d'acquisition « para-héréditaire » de propriétés nouvelles ont jusqu'ici été reconnus chez les bactéries : l'un, la transformation, consiste dans la pénétration, dans des bactéries réceptrices, de molécules d'A.D.N., extraites de bactéries donatrices ; le second, la lysogénisation, aboutit à la formation d'une association stable entre une bactérie réceptrice et un virus ; le troisième enfin, la transduction, apparaît comme un composé des deux premiers puisque, par l'intermédiaire d'un bactériophage, du matériel génétique d'une bactérie donatrice est transporté dans une bactérie réceptrice. Comme l'écrivait Eugène Wollman, en 1928, « les deux notions d'hérédité et d'infection, qui paraissaient si parfaitement distinctes et en quelque sorte incompatibles, arrivent... à presque se confondre dans certaines conditions ».

Dans le cas de la transformation comme dans celui de la transduction, on se trouve en présence de mécanismes insolites, certes, d'échange de caractères génétiques entre individus de même race ou de même espèce. Il s'agit cependant bien de phénomènes d'hybridation, déroulant tout d'abord pour le généticien, mais qui ne mettent pas en cause

les données essentielles de la génétique. Dans la lysogénisation, au contraire, c'est le matériel génétique d'un virus qui s'associe à celui d'une bactérie. L'existence d'une telle association ne va pas sans soulever des problèmes. Ce sont ces problèmes qui vont être maintenant considérés.

III. — LA LYSOGÉNIE ET SON DÉTERMINISME GÉNÉTIQUE

La lysogénie représente une situation où, comme l'écrivait Bordet en 1925, « la faculté de reproduire le bactériophage est inscrite dans la trame héréditaire de la bactérie ». Quoique cette définition soit encore valable aujourd'hui, les faits ayant trait à la lysogénie donnèrent lieu aux interprétations les plus diverses et il fallut attendre jusqu'en 1950 pour que, grâce aux travaux de Lwoff et de ses collaborateurs, fût comprise la nature véritable de ce phénomène.

Pour que la lysogénie devint accessible à l'analyse expérimentale, il fallait, en effet, que l'on parvînt d'abord à distinguer les différentes relations qui peuvent exister entre bactéries et bactériophages.

L'une des situations extrêmes est celle des bactériophages virulents. L'infection par de tels phages aboutit inéluctablement à la mort de la bactérie et à la production de nouvelles particules infectieuses. Elle a fait l'objet des études classiques de Delbrück (1946), Luria (1953), Hershey (1957) et de leurs écoles.

L'autre situation extrême est celle des bactéries lysogènes chez lesquelles existe une association stable entre bactériophages et bactéries. Cette association, apparemment inoffensive pour les bactéries, se manifeste cependant par la production de bactériophages actifs sur d'autres bactéries. On trouvera dans la revue de Lwoff (1953) et dans la monographie de Jacob (1954) aussi bien l'historique des idées concernant la lysogénie que l'exposé des acquisitions réalisées dans ce domaine. D'autres mises au point ont été publiées plus récemment (Jacob et Wollman, 1957a ; Bertani, 1958).

A. — *La notion de prophage.*

La lysogénie est, par définition, la propriété héréditaire de produire du bactériophage en l'absence de toute infection extrinsèque. Une bactérie lysogène possède donc et transmet à sa descendance le pouvoir de produire du bactériophage (Lwoff, 1953). Comme cette production aboutit à la destruction de la bactérie productrice, le pouvoir qu'ont les

bactéries lysogènes de produire du phage est donc un caractère létal potentiel (Lwoff et Gutmann, 1950). Les bactéries lysogènes ne contiennent pas de particules infectieuses de bactériophage (Burnet et Mc Kie, 1929 ; Wollman et Wollman, 1936). A la forme non infectieuse sous laquelle les bactéries lysogènes perpétuent le pouvoir de produire du phage, Lwoff et Gutmann ont donné le nom de *prophage*.

Dans une culture de bactéries lysogènes, seule une petite fraction de la population se lyse en libérant des particules infectieuses de bactériophages. Chez ces bactéries, et pour des raisons encore inconnues, une rupture de l'équilibre entre prophage et bactérie s'est donc produite. Avec certaines souches de bactéries lysogènes, un traitement tel que l'irradiation par de faibles doses de lumière ultraviolette provoque le développement du bactériophage et la libération de particules infectieuses chez la quasi-totalité des bactéries d'une culture. C'est le phénomène d'*induction*, découvert par Lwoff, Siminovitch et Kjeldgaard (1950), et les agents capables de produire cet effet sont appelés agents inducteurs. Chez d'autres souches lysogènes, au contraire, on ne connaît pas de moyens d'augmenter le taux de production spontanée de particules infectieuses. Le caractère inductible ou non inductible d'une souche est, en général, déterminé par le type de prophage qu'elle perpétue.

On sait qu'après l'infection de bactéries sensibles, les bactériophages entrent dans une phase non infectieuse (Wollman et Wollman, 1937 ; Doermann, 1948). Ceci, comme l'ont montré Hershey et Chase (1952), est dû au fait que seul l'acide nucléique des particules infectantes pénètre dans les bactéries et que le pouvoir infectieux, c'est-à-dire la propriété de s'adsorber spécifiquement sur les bactéries sensibles, est une propriété de l'enveloppe protéique des bactériophages. Au cours de la reproduction du bactériophage, que ce soit après l'infection de bactéries sensibles ou après l'induction de bactéries lysogènes, le génome phagique se trouve donc dans un état non infectieux ou *état végétatif* (voir Jacob, 1954).

Entre ces deux états non infectieux, l'état végétatif d'une part, l'état de prophage d'autre part, il existe une différence fondamentale.

A l'*état végétatif*, le génome phagique se multiplie activement et gouverne la synthèse des matériaux nécessaires à la production de particules infectieuses. Cette phase de multiplication ou phase végétative est donc essentiellement instable et conduit à la lyse de la bactérie et à la libération de particules infectieuses.

A l'*état de prophage*, au contraire, le génome phagique se comporte comme un constituant bactérien normal dont la reproduction est étroitement coordonnée avec celle de la bactérie. Avec une faible probabilité, il peut évoluer vers l'état végétatif. Dans le cas des souches lyso-

priétés des dérivés lysogènes et non lysogènes, on conçoit combien il serait difficile, dans de tels cas, de distinguer un prophage d'un déterminant génétique bactérien.

L'existence des bactéries lysogènes soulève donc des problèmes génétiques d'un grand intérêt. On peut, en particulier, se demander si, dans une bactérie lysogène, il existe un petit ou un grand nombre de prophages et si le prophage a les propriétés d'un constituant cytoplasmique ou celles d'un constituant nucléaire. On peut se demander également si le prophage est le seul déterminant génétique de la lysogénie ou si celle-ci ne serait pas aussi sous le contrôle de facteurs bactériens. Il est possible d'obtenir, sur ces différents problèmes, des renseignements indirects par les techniques d'études propres au bactériophage (voir Jacob, 1954 ; Jacob et Wollman, 1957a), mais il est clair que seules des expériences génétiques doivent être à même de leur apporter une réponse satisfaisante.

L'existence de phénomènes de recombinaison génétique chez les bactéries devait permettre d'aborder une telle étude. En effet, la souche K12 d'*E. coli*, chez laquelle ces phénomènes ont été découverts, est lysogène, et des mutants non lysogènes de cette souche ont pu être isolés (E. Lederberg, 1951). Il devenait ainsi possible de réaliser des croisements entre bactéries lysogènes et bactéries non lysogènes et d'étudier le comportement du caractère lysogène au cours de ces croisements. Cette étude, comme on le verra dans la suite de cet exposé, a permis d'élucider le déterminisme génétique de la lysogénie. Inversement, l'analyse génétique des croisements entre bactéries lysogènes et bactéries non lysogènes a beaucoup contribué à préciser nos connaissances sur le mécanisme de la conjugaison et de la recombinaison génétique chez les bactéries.

*
.

L'existence, chez les bactéries, de mécanismes d'échange ou de transfert de propriétés héréditaires, à peine soupçonnée il y a seulement une quinzaine d'années, a permis d'étendre à ces microorganismes les méthodes de l'analyse génétique. Ces mécanismes s'étendent depuis ce qui semble bien être l'équivalent d'un processus de conjugaison jusqu'à des modes de transfert de segments chromosomiques ou même de « matériel génétique purifié », inconnus jusqu'alors. Quoique leur signification évolutive soit encore difficile à évaluer, il semble qu'on puisse les considérer comme des ébauches de processus sexuels. C'est tout particulièrement le cas du phénomène découvert par Lederberg et Tatum, puisque la recombinaison génétique requiert un contact entre bactéries.

Enfin, la lysogénie pose à la fois le problème du déterminisme de caractères héréditaires par des éléments doués d'un degré d'autonomie beaucoup plus considérable que les facteurs génétiques proprement bactériens, et celui des relations entre cellules et virus.

C'est à ces deux problèmes, la conjugaison chez les bactéries d'une part, le déterminisme génétique de la lysogénie d'autre part, que sera consacrée la suite de cet exposé.

DEUXIÈME PARTIE

LA RECOMBINAISON GÉNÉTIQUE
A BASSE FRÉQUENCE

CHAPITRE III

LES CARACTÉRISTIQUES DES CROISEMENTS A BASSE FRÉQUENCE DE RECOMBINAISON

L'expérience de Lederberg et Tatum, qui a été décrite dans le chapitre précédent, démontrait l'existence de phénomènes de recombinaison génétique chez les bactéries. Cette recombinaison génétique était, selon toute apparence, la conséquence d'un processus de conjugaison, car elle ne se produisait que si les bactéries parentales avaient été effectivement en contact. Nous allons brièvement résumer dans ce chapitre les caractéristiques de la recombinaison chez *E. coli* K₁₂ et les résultats des études auxquelles elle a donné lieu.

I. — L'ANALYSE GÉNÉTIQUE DES CROISEMENTS

Le nombre des recombinants génétiques formés dans les expériences de Lederberg et Tatum était toujours très faible. Quoiqu'il pût varier selon les souches mises en présence et selon la sélection réalisée, ce nombre ne dépassait jamais la proportion d'un recombinant pour cent mille à un million de bactéries. Cette faible fréquence de recombinaison impose donc une méthodologie particulière et complique singulièrement l'analyse des résultats obtenus.

A. — *Les méthodes de l'analyse génétique.*

Les méthodes généralement utilisées en génétique consistent à analyser la *totalité* de la descendance de plusieurs croisements identiques, ou des *échantillons pris au hasard* parmi l'ensemble des produits d'un grand nombre de croisements identiques. L'extrême faiblesse de la fréquence de recombinaison observée dans les croisements chez *E. coli* K₁₂

fait une nécessité de la méthode originale de Lederberg et Tatum qui consiste à sélectionner certains types de recombinants. Cette méthode présente certaines particularités.

1) Parmi tous les actes de conjugaison possibles, seuls sont décelés ceux qui aboutissent à la formation d'un certain type de recombinant.

2) Parmi tous les produits éventuels d'un tel acte de conjugaison, seul le type de recombinant sélectionné peut être analysé.

3) Ce n'est pas le produit direct de la conjugaison que l'on analyse, mais sa descendance, puisqu'une colonie de recombinants contient environ 10^7 individus.

En dépit de ces particularités, les caractères essentiels de la recombinaison génétique chez *E. coli* K12 ont été rapidement dégagés, grâce aux travaux de Tatum et Lederberg (1947) et de Lederberg (1947).

Parmi les caractères génétiques dont on analyse le comportement au cours d'un croisement, on doit distinguer, d'une part, des *caractères sélecteurs*, que l'on utilise pour la sélection des recombinants et, d'autre part, des *caractères non sélectionnés* (ou marqueurs). En croisant des souches qui se distinguent par un grand nombre de caractères, on peut, dans une sélection donnée, rechercher comment se répartissent les différents marqueurs parmi les recombinants sélectionnés. Lorsque plusieurs caractères peuvent être utilisés indépendamment comme sélecteurs, on peut, dans un même croisement, réaliser plusieurs sélections différentes. C'est par ces méthodes que Lederberg (1947) a pu établir que les différents caractères génétiques d'*E. coli* K12 semblaient être disposés sur un seul groupe de liaison et dresser les premières cartes génétiques d'un « chromosome bactérien ».

B. — Les bases de l'analyse génétique.

Quelques exemples simples, empruntés à Lederberg (1947), permettront d'illustrer ces méthodes et d'établir les caractéristiques essentielles du processus de recombinaison génétique chez *E. coli* K12.

Soit un croisement entre une souche doublement auxotrophe, c'est-à-dire incapable de réaliser la synthèse de deux métabolites essentiels, la biotine (B) et la méthionine (M), et un auxotrophe triple, déficient pour la synthèse de la thréonine (T), de la leucine (L) et de la vitamine B₁. On peut décrire ces souches comme étant, l'une (A) T⁺L⁺B₁⁺M⁻B⁻ et l'autre (B) T⁻L⁻B₁⁻M⁺B⁺. Si les souches parentales sont toutes deux sensibles au bactériophage virulent T₁ ou si elles lui sont toutes deux résistantes, tous les recombinants prototrophes T⁺L⁺B₁⁺M⁺B⁺ formés sont, dans le premier cas, T₁^s comme les types parentaux, et dans le second cas T₁^r.

Soit maintenant les croisements inverses quant au caractère (T_1) :

$$(1) \quad T^+L^+B_1^+M^-B^-T_1^r \times T^-L^-B_1^-M^+B^+T_1^s$$

et :

$$(2) \quad T^+L^+B_1^+M^-B^-T_1^s \times T^-L^-B_1^-M^+B^+T_1^r.$$

Dans le croisement (1) 75 % des recombinants prototrophes formés ont le caractère T_1^r du type parental (A) et 25 % le caractère T_1^s du type parental (B). Dans le croisement (2), les proportions sont inversées puisque 64 % des recombinants prototrophes ont cette fois le caractère T_1^s du type parental (A) et 36 % le caractère T_1^r du type parental (B). Ajoutons que l'analyse d'un grand nombre de bactéries d'une même colonie de recombinants indiquait que toutes ces bactéries étaient identiques, non seulement quant à leur caractère prototrophe, mais aussi quant à leur caractère de résistance ou de sensibilité au bactériophage T_1 .

Ces résultats permettaient à Lederberg de tirer les conclusions suivantes.

1) Les bactéries sont *haploïdes*, comme l'indique le fait que la ségrégation des allèles T_1^r et T_1^s s'opère chez les recombinants sélectionnés (clones issus d'hybrides de première génération) et que les proportions dans lesquelles ces allèles apparaissent sont inversées selon que ces allèles sont portés par l'un ou l'autre des types parentaux.

2) La ségrégation du zygote est *précoce*, car les colonies de recombinants sont constituées d'individus de même génotype.

3) Il existe des relations de liaison entre les déterminants génétiques étudiés, le caractère (T_1) apparaissant plus lié aux caractères sélecteurs $T^+L^+B_1^+$ qu'aux caractères M^+B^+ .

Lederberg put étendre ces résultats en utilisant successivement comme caractères non sélectionnés chacun des caractères nutritionnels qui, dans les croisements précédents, avaient été utilisés exclusivement comme sélecteurs, puis en marquant différenciellement les souches mises en jeu dans le croisement par de nouveaux caractères tels que le pouvoir de provoquer la fermentation du lactose (Lac) ou la résistance au bactériophage T_6 . Il parvint ainsi à établir que les différents caractères étudiés étaient tous liés entre eux et pouvaient être disposés selon un ordre linéaire. La première carte génétique ainsi dressée par Lederberg (1947) est représentée sur la figure 3.

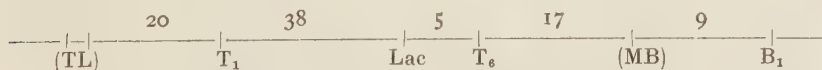


FIG. 3. — Les nombres indiqués correspondent aux fréquences relatives de recombinaison entre les différents caractères
(D'après LEDERBERG, 1947).

Il convient de remarquer que, chez les souches choisies, les caractères sélecteurs T et L d'une part, M et B d'autre part, sont suffisamment rapprochés pour que leur utilisation simultanée ne complique pas inutilement l'analyse génétique lorsque l'on sélectionne des recombinants $T^+L^+M^+B^+$.

Ainsi, très tôt après la découverte de la recombinaison génétique chez les bactéries, le brillant travail de Lederberg apportait la démonstration que, chez ces microorganismes, la ségrégation et la recombinaison de nombreux caractères se produisent au cours des croisements et que les déterminants génétiques de ces caractères semblent pouvoir être ordonnés le long d'une structure linéaire. Il paraît donc justifié, par analogie avec ce qui existe chez les autres organismes, de désigner par l'expression de « chromosome bactérien », la structure matérielle qui est le support de ce groupe de liaison génétique.

Les résultats de l'analyse génétique des croisements semblaient confirmer le bien-fondé de l'hypothèse proposée par Lederberg et Tatum pour rendre compte du phénomène de recombinaison génétique chez les bactéries, hypothèse selon laquelle la recombinaison serait la conséquence d'une fusion cellulaire suivie de fusion nucléaire, et de « cross-ing-over » survenant au cours de la réduction méiotique du zygote. Cette hypothèse, qui était la plus simple, était également la seule qui offrit une base à l'analyse génétique et permit d'en interpréter les résultats. En effet, en raison de la faible fréquence de recombinaison, l'analyse génétique d'une certaine classe de recombinants sélectionnés n'est justifiée que si ces recombinants proviennent de zygotes semblables, eux-mêmes formés au cours d'actes de conjugaison similaires, c'est-à-dire s'ils sont des échantillons d'une population homogène.

II. — LES DÉVELOPPEMENTS DE L'ANALYSE GÉNÉTIQUE

L'analyse génétique a été étendue à un grand nombre de caractères génétiques, plus particulièrement à ceux dont la mise en évidence est relativement aisée : pouvoir de synthétiser des métabolites essentiels, capacité à utiliser divers glucides (ou à provoquer leur fermentation), sensibilité ou résistance à divers bactériophages ou inhibiteurs. Certains de ces caractères peuvent servir aussi bien à la sélection de recombinants que comme « marqueurs », d'autres ne peuvent jouer que le rôle de caractères non sélectionnés. On trouvera dans le tableau I une liste de quelques-uns des caractères qui ont ainsi été utilisés dans l'étude de la recombinaison génétique chez *E. coli* K₁₂ ou dont la localisation a été recherchée par cette méthode.

TABLEAU I

Quelques caractères mis en œuvre dans l'étude de la recombinaison génétique chez *E. coli* K12.

Biosynthèse	Symbole	Références	Utilisation	Symbole	Références	Résistance	Symbole	Références
Acides aminés :			Glucides :			Inhibiteurs :		
Thréonine . . .	T	3, 7, 9 11, 14, 15	Lactose .	Lac	3, 8, 9, 11, 14	Niture de Na .	Az	3, 10
Leucine . . .	L	9, 15	Galactose .	Gal	1, 3, 8, 13, 16	Valine . . .	Val	2, 12
Phénylalanine .	Pa	9, 15, 16 16	Arabinose .	Ara	3, 13	Norleucine . .	Nl	5
Cystine . . .	C	3, 5, 7, 9, 11, 13	Maltose .	Mal	3, 5, 11 13	Antibiotiques :		
Histidine . . .	H		Xylose .	Xyl		Streptomycine .	Sm	3, 10, 13
Méthionine . .	M		Mannitol .	Man		Chloromycétine .	Cm	4
Proline . . .	Pr	2, 5, 9				Terramycine . .	Tm	4
Vitamines :						Polymyxine . .	Pm	3
Biotine . . .	B	9, 15				Phages et colicines :		
Thiamine . . .	B ₁	3, 9, 11, 15				T ₁ —T ₆	T ₁	1, 11, 14, 15
						T ₃	T ₃	7
						T ₆	T ₆	9, 11
						λ	λ	16
						Colicines . . .	Col	6

Cette liste donne un aperçu de la diversité des caractères qui ont été utilisés dans l'étude de la recombinaison génétique. Certains sont usuellement utilisés pour la sélection de recombinants (T, L, M, Sm), soit comme sélecteurs, soit comme contre-sélecteurs (voir chapitres IV et V). D'autres jouent le rôle de marqueurs non sélectionnés dans le croisement (T, Lac, Xyl, Mal, etc.). Enfin, certains d'entre eux ont fait l'objet d'études spéciales, telles que les relations d'allélicisme qui peuvent exister entre différentes mutations portant sur le même caractère ou le déterminisme génétique de la résistance aux antibiotiques.

La liste des références n'est pas non plus exhaustive. Elle fournit, en général, l'indication de la première utilisation d'un caractère donné et celle des travaux qui ont surtout eu pour but de localiser les déterminants génétiques de ces caractères.

1. Cavalli, 1950 ; 2. Cavalli et Calef, 1955 ; 3. Cavalli et Lederberg, 1953 ; 4. Cavalli et Lederberg, 1953 ; 5. Gloues et Rowley, 1954 ; 6. Frédéricq et Belz-Barreau, 1952 ; 7. Hayes, 1953a ; 8. F. Lederberg, 1952 ; 9. J. Lederberg, 1947 ; 10. J. Lederberg, 1950 ; 11. Lederberg, 1947 ; 12. Manten et Rowley, 1951 ; 13. Newcombe et Nyholm, 1953 ; 14. Rolhoffs, 1952 ; 15. Iatum et Lederberg, 1947 ; 16. Wollman, 1953.

Une mention particulière doit être faite des caractères de résistance à des antibiotiques, ou à des inhibiteurs. L'emploi de l'un de ces caractères comme sélecteur permet d'empêcher la croissance résiduelle de l'un des types parentaux, ce qui n'est pas possible lorsque la sélection de recombinants génétiques est basée sur l'emploi de caractères nutritionnels (Lederberg, 1950b). Cette technique permet également de réaliser des croisements dans lesquels l'une seulement des souches mises en œuvre est auxotrophe et résistante à un antibiotique, par exemple, l'autre souche étant prototrophe et sensible. Ainsi peut être considérablement étendu le champ de l'expérimentation, puisqu'il n'est pas nécessaire d'avoir recours à l'opération laborieuse du « marquage » de souches dont on veut rechercher la fertilité ou analyser le comportement au cours d'un croisement.

Quels que soient les caractères étudiés, il est apparu qu'ils étaient sous la dépendance de déterminants qui, dans les croisements, se recombinaient ou ségrégeaient en association plus ou moins étroite avec les déterminants génétiques de caractères déjà étudiés. Ainsi se trouvait renforcée l'hypothèse selon laquelle il existerait un seul groupe de liaison, donc un seul chromosome, chez *E. coli* K12.

A. — *La recombinaison génétique et les relations d'allélisme.*

L'existence, chez les bactéries, de phénomènes de recombinaison génétique comparables au crossing-over, a permis d'étendre à ces microorganismes l'analyse des relations d'allélisme entre déterminants génétiques qui affectent en apparence le même caractère phénotypique. C'est ainsi que, parmi les mutants résistants au bactériophage T_1 , certains sont résistants à T_1 seul, d'autres à T_1 et à T_5 à la fois. En croisant des bactéries de l'un de ces types, avec des bactéries de l'autre type, on obtient des recombinants sensibles à T_1 , ce qui indique que ces deux mutations ne sont pas alléliques (Lederberg, Lederberg, Zinder et Lively, 1951). De même, l'analyse des mutations Lac^- a montré la grande complexité du système génétique qui gouverne le pouvoir de réaliser la « fermentation » du lactose, puisque sept loci au moins ont été identifiés (E. Lederberg, 1952). A certains de ces loci, des allèles multiples ont pu être mis en évidence, qui peuvent être distingués les uns des autres par la fréquence avec laquelle les souches correspondantes retournent au phénotype Lac^+ initial, qu'il s'agisse de mutations réverses au même locus ou de mutations à un autre locus (suppresseurs).

Ce type d'analyse a également été appliqué à l'étude de la résistance aux antibiotiques. On sait que l'acquisition, par mutation spontanée,

de la résistance à des antibiotiques ou des inhibiteurs, peut survenir suivant des modalités différentes. Dans certains cas, tels que celui de la streptomycine, un niveau de résistance élevé peut être acquis en une étape, tandis que dans d'autres cas, tel celui de la pénicilline, l'acquisition de la résistance se fait par paliers successifs (Demerec, 1948). Par des croisements appropriés, Newcombe et Nyholm (1950a) ont pu démontrer que la résistance à la streptomycine ne dépend que d'un seul locus. A ce locus correspondent au moins trois états alléliques différents qui sont responsables respectivement de la streptomycino-sensibilité, de la streptomycino-résistance et de la streptomycino-dépendance. Au contraire, dans le cas de la résistance à la chloromycétine, qui s'acquiert par paliers successifs, Cavalli et Maccacaro (1950, 1952) ont pu montrer qu'elle était de nature polygénique.

L'étude des relations d'allélisme, qui est une des bases de l'analyse mendélienne, fournit une preuve supplémentaire de l'homologie profonde qui existe entre le système génétique des bactéries et celui des organismes à reproduction sexuée. Cette étude offre également la possibilité d'établir les relations qui existent entre les déterminants génétiques et les caractères qu'ils gouvernent, c'est-à-dire les relations entre les gènes et leurs fonctions.

B. — Les diploïdes hétérozygotes et l'analyse fonctionnelle de l'allélisme.

L'analyse des croisements indiquait que la ségrégation des types recombinants est, en général, précoce et que les « zygotes » formés au cours de la conjugaison n'ont qu'une existence transitoire. Dans certains cas, cependant, Lederberg (1949b) parvint à isoler des formes prototrophes qui semblaient avoir les caractères de diploïdes hétérozygotes persistants. Ces bactéries prototrophes, en effet, donnaient naissance, au cours de leur multiplication, à des bactéries ayant le génotype de l'un ou de l'autre type parental aussi bien qu'à des types recombinants. L'existence de ces diploïdes hétérozygotes, dont la réalité fut vérifiée par l'isolement au micromanipulateur de bactéries individuelles (Zelle et Lederberg, 1951), apportait une nouvelle preuve du caractère sexuel de la recombinaison génétique chez *E. coli* K12. Elle semblait également ouvrir de nouvelles possibilités à l'analyse génétique de ce phénomène.

La formation de diploïdes hétérozygotes est la conséquence d'une mutation (Het), apparue chez l'une des souches d'*E. coli* K12, mutation dont les conséquences apparurent bientôt comme étant extrêmement complexes. L'analyse génétique révéla, en effet, que ces diploïdes

persistants n'étaient pas des hétérozygotes vrais, car, si pour certains caractères, les allèles des deux types parentaux étaient présents, pour d'autres caractères, un seul allèle se trouvait représenté. En général, ce sont les caractères de l'un des parents qui prédominent dans ces formes aberrantes (Lederberg, Lederberg, Zinder et Lively, 1951).

En dépit de ces particularités, sur lesquelles nous aurons l'occasion de revenir, l'existence de formes diploïdes hétérozygotes permet d'analyser les interactions entre déterminants génétiques qui affectent le même caractère. C'est ainsi que, chez les diploïdes hétérozygotes qui portent les déterminants sauvage et mutant d'un même caractère, le pouvoir de synthétiser un métabolite essentiel est dominant sur l'absence de ce pouvoir, le pouvoir d'utiliser ou de provoquer la fermentation d'un glucide est dominant sur l'absence de ce pouvoir, la sensibilité à un bactériophage est dominante sur la résistance (Lederberg, 1949b) et la sensibilité à la streptomycine dominante sur la résistance à cet antibiotique (Lederberg, 1951a).

Un autre type d'analyse, qu'il n'est pas possible de réaliser avec des bactéries haploïdes, mais que l'existence de formes diploïdes hétérozygotes permet d'aborder, c'est l'analyse fonctionnelle des mutations qui affectent le même caractère. On sait que, si des mutations ayant une expression phénotypique semblable se produisent à des loci différents, le diploïde hétérozygote (ou l'hétérokaryote) portant ces deux mutations sur des groupes de liaison (ou chromosomes) homologues, mais distincts (position *trans*), aura le phénotype sauvage et non le phénotype mutant (voir Lewis, 1951 ; Pontecorvo, 1956). Ceci indique que les deux mutations affectent deux réactions différentes qui l'une et l'autre sont impliquées dans la réalisation du phénotype sauvage. Si, au contraire, le diploïde hétérozygote (ou l'hétérokaryote) en position *trans* a le phénotype mutant et non le phénotype sauvage, on y voit l'indication que les deux mutations affectent la même fonction. Ceci conduit à une définition fonctionnelle de l'allélisme puisque sont considérées comme alléliques les mutations qui affectent la même fonction, indépendamment du fait que des recombinaisons éventuelles puissent se produire entre les déterminants considérés.

Des analyses de cet ordre ont pu être réalisées chez *E. coli* K12 grâce à l'existence de formes diploïdes hétérozygotes. Deux mutations qui l'une et l'autre confèrent la résistance au bactériophage T₁, et qui ne peuvent être dissociées par recombinaison, se révèlent ainsi comme étant non alléliques par l'analyse fonctionnelle. Les diploïdes hétérozygotes pour ces mutations ont, en effet, le phénotype sauvage, sensible au phage T₁ (Lederberg et coll., 1951). Il ne s'agirait donc pas d'allèles multiples au même locus, mais de mutations survenues à des loci différents, quoique très liés. Un autre exemple de ce type d'analyse

est fourni par l'étude qui a été faite par E. Lederberg (1952), d'une série de mutations qui affectent l'utilisation du lactose. Trois de ces mutations Lac_{1a}^- , Lac_{1b}^- et Lac_4^- , quoique très liées les unes aux autres, sont dissociables par recombinaison. Les diploïdes hétérozygotes $Lac_{1a}^-Lac_4^+/Lac_{1a}^+Lac_4^-$ ou $Lac_{1b}^-Lac_4^+/Lac_{1b}^+Lac_4^-$ ont le phénotype Lac^+ , alors que le diploïde hétérozygote $Lac_{1a}^-Lac_{1b}^-/Lac_{1a}^+Lac_{1b}^-$ a le phénotype Lac^- , ce qui indique que les mutations Lac_{1a}^- et Lac_{1b}^- se sont produites à des sites différents d'un même locus (hétéroallèles), alors que la mutation Lac_4^- s'est produite à un autre locus (voir Beadle, 1957).

C. — Les croisements entre souches lysogènes et non lysogènes d'*E. coli* K12.

Le caractère lysogène de la souche K12 d'*E. coli* fut découvert de manière tout à fait fortuite par E. Lederberg (1951) qui isola, après action de la lumière ultraviolette, un mutant non lysogène et sensible au bactériophage produit par les autres souches d'*E. coli* K12. Ce bactériophage tempéré fut appelé λ , ce qui, notons-le au passage, constituait déjà une hypothèse quant au déterminisme génétique de la lysogénie, puisqu'il est convenu d'attribuer une lettre grecque pour symbole aux particules cytoplasmiques. La souche K12 lysogène, représentée par le symbole $K12(\lambda)$ conformément à l'usage, est inductible par la lumière ultraviolette (Weiglé et Delbrück, 1951) et, de ce fait, est devenue l'une des souches les plus utilisées pour l'étude de la lysogénie. Le fait que la souche K12 d'*E. coli* soit lysogène ne joue aucun rôle dans le phénomène de recombinaison génétique lui-même. La formation de recombinants génétiques s'observe aussi bien dans les croisements entre bactéries lysogènes que dans les croisements entre bactéries non lysogènes. De plus, tous les recombinants génétiques formés sont lysogènes, lorsqu'on croise entre elles des bactéries lysogènes ; ces recombinants sont, au contraire, non lysogènes quand les bactéries parentales sont elles-mêmes non lysogènes (E. Lederberg, 1951).

La possibilité de réaliser des croisements entre bactéries lysogènes et bactéries non lysogènes devait permettre d'obtenir des renseignements sur le déterminisme génétique de la lysogénie. Avant de rapporter les résultats de ces croisements, il n'est pas inutile de rappeler les quelques modèles simples que l'on pouvait *a priori* imaginer, afin de confronter à ces modèles les résultats expérimentaux.

1) Il pourrait exister, dans chaque bactérie, un nombre relativement élevé de prophages, dont la distribution se ferait au hasard lors de la division bactérienne (fig. 4a).

2) Il pourrait n'y avoir, dans chaque bactérie, qu'un nombre limité

de prophages (un par noyau, par exemple). La division du prophage devrait, dans ce cas, être étroitement coordonnée à celle du matériel génétique de la bactérie. Le prophage pourrait être soit indépendant du chromosome bactérien (fig. 4*b*), soit, au contraire, étroitement associé à celui-ci (fig. 4*c*).

3) Enfin, quelle que soit la nature du prophage lui-même, la lysogénie pourrait en outre dépendre d'un déterminant génétique bactérien dont le rôle serait, par exemple, d'assurer le maintien héréditaire du prophage (fig. 4*d*).

Dans les croisements entre bactéries lysogènes (ly^+) et bactéries non lysogènes (ly^-), les résultats suivants ont été obtenus.

D'une part, on observe la ségrégation du caractère lysogène : cer-

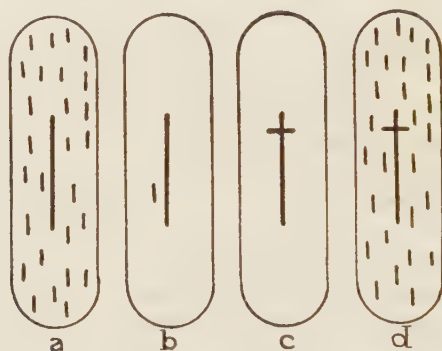


FIG. 4. — Représentation schématique des hypothèses concernant le déterminisme génétique de la lysogénie.

tains recombinants génétiques sont lysogènes, d'autres ne sont pas lysogènes.

D'autre part, la ségrégation des caractères ly^+ et ly^- des types parentaux se fait en association étroite avec certains déterminants génétiques de l'utilisation du galactose (Lederberg et Lederberg, 1953 ; Wollman, 1953).

Selon l'hypothèse formulée par Tatum et Lederberg (1947), la recombinaison génétique serait consécutive à la fusion des bactéries parentales. S'il en était ainsi, les résultats des croisements entre bactéries lysogènes et bactéries non lysogènes permettraient d'éliminer une représentation purement cytoplasmique de la lysogénie, telle que celle qui est représentée par le schéma *a* de la figure 4. La lysogénie semblait être sous la dépendance d'un facteur chromosomique, et ce facteur semblait être lié à des déterminants de l'utilisation du galactose. Les résultats obtenus ne permettaient cependant pas de décider si le prophage était le seul

déterminant héréditaire de la lysogénie (schéma c) ou si un déterminant proprement bactérien n'était pas également en cause (schéma d).

C'est à des conclusions semblables que conduisaient les résultats d'expériences portant sur les diploïdes hétérozygotes (Lederberg et Lederberg, 1953). Quoique les diploïdes isolés des croisements entre bactéries lysogènes et bactéries non lysogènes ne fussent jamais hétérozygotes pour le caractère « lysogénie », des diploïdes hétérozygotes pour ce caractère pouvaient être obtenus dans les croisements entre bactéries haploïdes Gal⁻ non lysogènes et diploïdes Gal⁺ lysogènes. Lors de la ségrégation de ces diploïdes hétérozygotes, les caractères lysogénie et galactose se retrouvaient dans les mêmes combinaisons que chez les types parentaux.

D. — *La recombinaison génétique dans le groupe Escherichia coli.*

Les études qui viennent d'être résumées ont toutes été réalisées avec différents mutants de la même souche d'*E. coli* K12. On pouvait se demander si la recombinaison génétique était un phénomène exceptionnel, particulier à cette souche, ou si des phénomènes comparables pouvaient être observés chez d'autres souches bactériennes. Pendant longtemps, les recherches de cet ordre demeurèrent peu nombreuses et le plus souvent infructueuses en raison des difficultés techniques que comportait la mise en évidence de la recombinaison génétique par la méthode de Lederberg et Tatum. On peut, cependant, parmi des *E. coli* isolés de milieux naturels ou provenant de collections, trouver des souches qui ne se développent pas en milieu synthétique minimum et dont la mutation vers la forme prototrophe est rare. Parmi sept souches ayant ces propriétés, Cavalli et Heslot (1949) en découvrirent une qui pouvait être croisée avec *E. coli* K12.

Grâce à la méthode qui consiste à croiser des bactéries prototrophes sensibles à la streptomycine — sensibilité qui est la règle dans le groupe *E. coli* — avec des bactéries auxotrophes et résistantes à la streptomycine, et à sélectionner les recombinants prototrophes et streptomycino-résistants, Lederberg (1951b) a pu faire une étude systématique de la « fertilité » dans le groupe *E. coli*. Parmi environ 2 000 souches différentes d'*E. coli*, il en trouva une cinquantaine qui étaient capables de former des recombinants lorsqu'elles étaient croisées avec une même souche T-L-B₁-Sm^r d'*E. coli* K12. La fertilité n'apparaissait donc plus comme un phénomène exceptionnel. Cependant, sa relative rareté (qui pouvait être due au fait que la production de substances antibiotiques du type colicines et la lysogénie sont fréquentes dans le groupe *E. coli*)

pouvait également s'interpréter par l'existence de phénomènes de compatibilité sexuelle qui seront décrits dans le chapitre suivant (Lederberg et Tatum, 1953).

La recombinaison génétique n'est donc pas l'apanage d'une seule souche d'*E. coli*. En dépit du petit nombre de souches chez lesquelles ce phénomène pouvait être démontré, en dépit également du petit nombre de recombinants formés dans un croisement donné, ce phénomène apparaissait bien comme étant l'équivalent d'un processus sexuel. Il permettait d'aborder l'étude, jusqu'alors impossible, de nombreux problèmes de génétique bactérienne. Les résultats de ces études indiquaient que l'organisation des déterminants génétiques bactériens était fondamentalement analogue à celle que l'on connaissait chez des organismes plus évolués. Cependant, des difficultés ne tardèrent pas à se faire jour que nous allons brièvement résumer.

III. — LES DIFFICULTÉS DE L'ANALYSE GÉNÉTIQUE

A. — *Les croisements entre bactéries haploïdes.*

Plus nombreux devenaient les caractères étudiés, plus variés les moyens de sélection des recombinants, plus grandes se faisaient aussi les difficultés rencontrées dans l'interprétation des résultats. Si des relations de « linkage » évidentes se manifestaient à l'intérieur de certains groupes de caractères, il était souvent difficile d'ordonner, les uns par rapport aux autres, les différents groupes de liaison ainsi définis et de les disposer sur un même chromosome (Cavalli, 1950 ; Newcombe et Nyholm, 1950b ; Lederberg et coll., 1951 ; Fried et Lederberg, 1952). L'analyse des résultats obtenus conduisait à émettre des hypothèses telles que l'existence d'un chromosome ramifié (Lederberg et coll., 1951) ou même l'existence de deux chromosomes ayant cependant certaines interréciproques (Fried et Lederberg, 1952).

Même lorsqu'il s'agissait de caractères situés sur le même groupe de liaison, il y avait de considérables difficultés à déterminer leur ordre et leurs distances relatives. C'est ainsi que, pour un groupe de cinq caractères (S, Mal, Xyl, Gal, Ara) (voir tableau I), Newcombe et Nyholm (1950b), analysant leurs résultats par quatre méthodes différentes, obtinrent cinq solutions possibles. Ils conclurent à l'existence d'un haut degré d'interférence négative.

De même, Rothfels (1952), dans une remarquable analyse de la linéarité du segment TL T₁ Lac M, observa, lui aussi, un excès sensible du nombre des recombinants doubles formés, mais put établir sans

ambiguïté l'ordre des caractères considérés. L'hypothèse qui lui semblait le mieux rendre compte des anomalies qu'il constatait était celle d'un défaut et d'une irrégularité d'appariement entre structures homologues.

Des anomalies plus importantes encore étaient observées lorsque l'on comparait les résultats de croisements mettant en œuvre des souches différentes ou même les résultats de croisements entre deux types parentaux donnés d'une part, et ceux des croisements en retour (recombinants $\times$ type parental) d'autre part.

B. — *La ségrégation des diploïdes hétérozygotes.*

Si l'analyse des recombinants génétiques formés à basse fréquence donnait lieu à de sérieuses difficultés d'interprétation, des difficultés non moins sérieuses se firent jour lorsque fut analysé le comportement des formes diploïdes hétérozygotes isolées par Lederberg (1949b). Ainsi qu'il a été indiqué, ces formes diploïdes sont apparemment hémizygotes pour un certain nombre de caractères. Or, les allèles qui ne sont pas représentés dans ces hétérozygotes sont, dans la grande majorité des cas, ceux de l'un des types parentaux, toujours le même. Ces résultats furent interprétés comme étant l'expression d'aberrations chromosomiques (Lederberg, Lederberg, Zinder et Lively, 1951).

A partir des diploïdes hétérozygotes, on peut isoler des ségrégants ayant les mêmes caractères que l'un des types parentaux B. Lorsque ces ségrégants sont croisés avec l'autre type parental A (croisement en retour), la distribution des caractères non sélectionnés parmi les recombinants formés diffère considérablement de celle que révèle l'analyse des recombinants obtenus lors d'un croisement témoin entre bactéries parentales A et B. Les cartes génétiques que l'on serait amené à dresser dans l'un ou l'autre cas seraient, par conséquent, très différentes elles aussi.

*
* *

L'analyse des recombinants haploïdes formés à basse fréquence aussi bien que la ségrégation des diploïdes hétérozygotes instables révélait donc l'existence de nombreuses anomalies qui faisaient de la recombinaison génétique chez *E. coli* K12 un exemple de tératologie génétique. L'existence d'un phénomène de conjugaison ne faisait pas de doute, comme le confirmaient les expériences cinétiques de Nelson (1951). La réalité de phénomènes de recombinaison génétique et de linkage était également fermement établie. Cependant, l'existence d'anomalies telles

que celles qui viennent d'être brièvement décrites inspirait à Lederberg ces réflexions désabusées : « on peut se demander si l'attitude qui consiste à analyser les ségrégations telles qu'on peut les observer chez *E. coli* en termes de chromosomes ou de cytogénétique n'est pas entièrement fallacieuse, si l'on n'aurait pas en réalité affaire à un mécanisme de recombinaison génétique tout à fait différent » (Lederberg et coll., 1951). Il semblait, en effet, qu'il dût exister dans le mécanisme de la conjugaison sexuelle chez *E. coli* K12 certaines particularités qui, passées jusque-là inaperçues, étaient responsables des difficultés auxquelles se heurtait l'interprétation des résultats des croisements.

CHAPITRE IV

LA DIFFÉRENCIATION SEXUELLE ET SES CONSÉQUENCES GÉNÉTIQUES

Nous avons indiqué combien avait été fructueuse l'hypothèse, formulée par Lederberg et Tatum, selon laquelle le processus de conjugaison chez les bactéries comportait, comme chez la plupart des autres organismes, une fusion cellulaire (*syngamie*) suivie de fusion nucléaire (*caryogamie*). Comme les souches mises en jeu dans les croisements provenaient toutes d'une même souche sauvage K₁₂ d'*E. coli*, on admettait également que la conjugaison bactérienne ne comportait pas de différenciation sexuelle et que ces bactéries étaient, par conséquent, *homothalliques*.

Différentes observations devaient cependant démontrer qu'il n'en était pas ainsi. Non seulement il existe chez les bactéries des types sexuels différents, mais cette différenciation sexuelle a de profondes conséquences génétiques.

C'est à William Hayes que, pour une large part, revient le mérite des progrès réalisés depuis quelques années dans notre connaissance de la conjugaison bactérienne. S'attachant davantage à l'étude du mécanisme de ce phénomène qu'à l'analyse formelle des résultats des croisements, Hayes montra le premier que les anomalies que révélait l'analyse génétique pourraient n'être qu'une conséquence de particularités propres au processus de conjugaison lui-même.

I. — LA POLARITÉ DES CROISEMENTS BACTÉRIENS

La plupart des croisements d'*E. coli* K₁₂ ont été réalisés entre bactéries dérivées de deux lignées principales. Ces deux lignées, originellement isolées par Tatum (1945), ont été choisies, d'une part, en raison de la fertilité relativement élevée des croisements et, d'autre part, parce que les recombinants sélectionnés permettaient de localiser sans trop de difficultés divers caractères génétiques. L'une de ces souches (A) est

incapable de réaliser la synthèse de la méthionine et de la biotine (M^-B^-), l'autre (B) est auxotrophe pour la thréonine, la leucine et la vitamine B_1 ($T^-L^-B_1^-$). Or, ces deux souches classiques appartiennent, ainsi qu'on va le voir, à des types sexuels différents.

A. — *La polarité sexuelle.*

La première démonstration de cette différenciation sexuelle fut donnée par Hayes. Dans une étude cinétique de la conjugaison, Hayes (1952a) réalisa les croisements réciproques entre bactéries A Sm^s (sensibles à la streptomycine) et bactéries B Sm^r (résistantes à la streptomycine), d'une part, entre bactéries A Sm^r et bactéries B Sm^s , d'autre part. Dans le premier cas, le nombre de recombinants formés était approximativement le même, que le mélange de bactéries fût immédiatement étalé sur un milieu contenant de la streptomycine ou sur un milieu sans streptomycine. Dans le second cas, au contraire, aucun recombinant n'était formé lorsque le mélange de bactéries était étalé en présence de streptomycine. Ainsi, l'antibiotique n'empêchait pas la recombinaison génétique de s'accomplir lorsque c'était les bactéries de la souche A qui étaient streptomycino-sensibles. Il stérilisait, au contraire, le croisement lorsque c'était les bactéries de la souche B qui étaient sensibles à son action.

La polarité que révélait cette expérience était indépendante de la présence de streptomycine dans le milieu de sélection et, par conséquent, de la ségrégation ou de l'expression du déterminant génétique de la streptomycino-résistance. Si, en effet, des bactéries A et B, sensibles à la streptomycine, étaient, à tour de rôle, stérilisées par cet antibiotique, puis croisées, sur un milieu dépourvu de streptomycine, avec des bactéries non traitées, le même phénomène se reproduisait : lorsque les bactéries de la souche (A) avaient été traitées par l'antibiotique, le nombre de recombinants $T^+L^+M^+B^+$ formés n'était pas sensiblement réduit par comparaison avec les résultats d'un croisement témoin ; lorsque le même traitement avait été appliqué à la souche (B), aucun recombinant n'était formé : le croisement était stérile.

Il semblait donc que le rôle des deux types de bactéries mises en jeu dans le croisement ne fût pas identique. Selon toute apparence, la formation des recombinants était assurée par les bactéries de la souche (B) dont la survie était, par conséquent, indispensable. Quant aux bactéries de la souche (A) dont la survie n'était pas nécessaire, il semblait que leur rôle fût en quelque sorte de « féconder » les bactéries de la souche (B), de transférer à ces bactéries du matériel génétique. On était donc amené à distinguer, d'une part, des *bactéries donatrices* et,

d'autre part, des *bactéries réceptrices* de caractères génétiques (Hayes, 1952a).

Un autre exemple de cette polarité sexuelle est fourni par l'effet différentiel de la lumière ultraviolette sur les bactéries mises en jeu dans un croisement. Il avait déjà été observé (Haas et coll., 1948 ; Clark et coll., 1950) que de petites doses de lumière ultraviolette avaient pour effet d'accroître le nombre de recombinants formés dans un croisement. Lorsque l'on irradie, non plus le mélange de bactéries, mais l'une ou l'autre souche, on constate (Hayes, 1952b) que l'irradiation des bactéries de la souche (A) provoque un accroissement sensible de la fréquence de recombinaison, tandis que l'irradiation des bactéries de la souche (B) aboutit, au contraire, à une diminution du nombre de recombinants formés.

Ces phénomènes semblaient bien exprimer l'existence d'une différenciation sexuelle chez *E. coli* K12. D'autres preuves ne tardèrent pas à en être fournies. A partir de la souche (A) B-M⁻, certains mutants furent isolés par hasard qui, mélangés dans les conditions habituelles à des bactéries de la souche (B) T-L-B₁⁻, ne formaient pas de recombinants. Ces mutants, qui avaient apparemment perdu leur fertilité (mutants F⁻), pouvaient cependant être croisés avec succès, soit avec un ségrégant T-L-B₁⁻ de « diploïde » (Lederberg, Cavalli et Lederberg, 1952), soit avec une souche sauvage d'*E. coli* K12 ou un recombinant prototrophe (Hayes, 1953a). On pouvait donc établir une distinction entre des souches F⁻, dont les croisements étaient stériles, et des souches F⁺, dont les croisements avec les souches F⁻ étaient fertiles. Les bactéries F⁻ étaient l'équivalent des bactéries réceptrices de Hayes et les bactéries F⁺ correspondaient aux bactéries donatrices.

Les résultats des croisements que l'on peut réaliser entre bactéries de types sexuels différents peuvent être résumés de la manière suivante (voir tableau II).

B. — *Le facteur de fertilité F.*

La souche sauvage K12 d'*E. coli*, ainsi que la plupart des mutants qui en dérivent sont F⁺, tandis que les souches issues du mutant poly-auxotrophe T-L-B₁⁻ sont F⁻. Il semble qu'au cours des traitements (en particulier des irradiations par les rayons X) qui ont conduit à l'isolement de ce mutant, une mutation de l'état F⁺ à l'état F⁻ se soit produite. D'autres mutations de ce type ont depuis été observées en de rares occasions.

Bactéries F⁺ et bactéries F⁻ semblent donc différer par la présence dans les premières d'un facteur héréditaire dont les secondes seraient

dépourvues. Ce facteur de fertilité, F , possède la propriété remarquable d'être *transmissible*, avec une très grande efficacité, par contact des bactéries F^+ avec des bactéries F^- (Lederberg, Cavalli et Lederberg, 1952 ; Hayes, 1953a ; Cavalli, Lederberg et Lederberg, 1953).

TABLEAU II

*Influence du type sexuel des bactéries
sur les résultats d'un croisement.*

Type de croisement	Exemple : $A \times B$	Résultat
$F^- \times F^-$	$B-M-F^- \times T-L-B_1-F^-$	Stérile 0
$F^+ \times F^-$	$B-M-F^- \times T-L-B_1-F^+$ $B-M-F^+ \times T-L-B_1-F^-$	Fertile ++
$F^+ \times F^+$	$B-M-F^+ \times T-L-B_1-F^+$	Fertile +

Dans un croisement entre bactéries F^+ et bactéries F^- , les recombinants sont F^+ . De même, les bactéries qui proviennent de la ségrégation de diploïdes hétérozygotes sont F^+ . Lorsque des bactéries F^+ et F^- sont mises en contact dans un milieu favorable à la croissance, il se produit une « conversion » des bactéries F^- à l'état F^+ . Cette conversion est extrêmement rapide, puisque 70 % environ des bactéries F^- peuvent être ainsi transformées en moins d'une heure. Les bactéries ayant acquis le caractère F^+ le transmettent héréditairement à leur descendance et les souches ainsi obtenues peuvent à leur tour transmettre le caractère F^+ à d'autres bactéries F^- . Ces propriétés et, en particulier, la facilité avec laquelle s'opère le transfert du « caractère F^+ » ont généralement fait considérer le facteur F comme étant « infectieux ». Cependant, toutes les tentatives faites pour obtenir la transformation de bactéries F^- en bactéries F^+ à l'aide de filtrats de cultures, d'extraits, de lysats, de broyats, ou même de bactéries F^+ entières mais tuées, ont échoué. Si l'acquisition du caractère F^+ pouvait donc apparaître comme un nouvel exemple « d'hérédité par infection », cette acquisition n'en exige pas moins, comme la recombinaison génétique elle-même, le contact de bactéries intactes et capables de métaboliser.

L'une des expressions phénotypiques du « facteur F » est la capacité que possèdent les bactéries F^+ de former des recombinants lorsqu'elles

sont mélangées avec des bactéries F^- . Dans certaines conditions physiologiques (bactéries F^+ ayant atteint la phase stationnaire de croissance), cette expression peut disparaître : les bactéries F^+ se comportent phénotypiquement comme des bactéries F^- (phénocopies) (Lederberg et coll., 1952 ; Cavalli et coll., 1953). Elles n'en restent pas moins génotypiquement F^+ car, lorsqu'elles sont replacées dans des conditions favorables, elles retrouvent leurs propriétés, aussi bien de former des recombinants lorsqu'on les mélange avec des bactéries F^- que de transmettre à celles-ci le caractère F^+ .

La différenciation sexuelle entre bactéries F^+ donatrices et bactéries F^- réceptrices est donc sous la dépendance d'un facteur héréditaire dont les propriétés diffèrent de celles des autres déterminants génétiques bactériens. Non seulement la ségrégation des types sexuels F^+ et F^- ne s'observe pas au cours des croisements, mais l'efficacité avec laquelle le facteur F est transmis de bactéries F^+ à bactéries F^- est de 10^5 à 10^6 fois plus grande que la fréquence de recombinaison observée dans des croisements entre ces mêmes bactéries. On peut se demander s'il s'agit là d'une différence dans la nature des déterminants génétiques des caractères héréditaires considérés ou s'il ne faudrait pas y voir plutôt un effet de particularités encore inconnues du mécanisme par lequel s'accomplit la conjugaison bactérienne.

C. — *La polarité génétique.*

Les faits qui viennent d'être rapportés démontrent l'existence d'une différenciation sexuelle chez les bactéries. Ils démontrent également que les deux types sexuels ne jouent pas un rôle équivalent au cours des croisements puisque le transfert de caractères génétiques semble se faire de bactéries F^+ donatrices à bactéries F^- réceptrices. C'est surtout à Hayes (1953a) que nous devons la démonstration des profondes conséquences génétiques de cette polarité sexuelle.

Soit, en effet, deux souches d'*E. coli* K12 dont l'une (A) a les caractères $T^+L^+B^-M^-$ et l'autre (B) les caractères opposés $T^-L^-B^+M^+$ (voir tableaux I et II) et qui diffèrent également par un certain nombre de caractères $a b c d e f \dots$ qui n'interviennent pas dans la sélection de recombinants $T^+L^+M^+B^+$. En outre, chacune de ces souches existe, soit sous la forme F^+ , soit sous la forme F^- . On peut donc réaliser les deux croisements symétriques :

$$(A)F^+ \times (B)F^- \quad \text{et} \quad (A)F^- \times (B)F^+$$

et sélectionner, dans les deux cas, le même type de recombinants $T^+L^+M^+B^+$ dont on détermine la *constitution génétique* (c'est-à-dire

la fréquence d'apparition, parmi les recombinants, de l'un ou l'autre allèle des caractères non sélectionnés $a b c d e f \dots$). Les résultats de l'analyse génétique révèlent que la constitution génétique du même type de recombinants $T^+L^+M^+B^+$ diffère considérablement d'un croisement à l'autre et qu'elle dépend, par conséquent, du type sexuel des souches mises en jeu dans le croisement. Dans tous les cas, les recombinants formés ressemblent davantage au type parental F^- qu'au type parental F^+ . *La fréquence avec laquelle tel allèle d'un caractère non sélectionné se retrouve parmi un type de recombinant donné varie selon que cet allèle est porté par les bactéries F^+ ou par les bactéries F^- .*

Cette polarité génétique que révèle l'analyse des croisements $F^+ \times F^-$ a également été observée par Cavalli, Lederberg et Lederberg (1953). Elle rend compte, en grande partie, des difficultés rencontrées jusqu'alors dans l'interprétation des résultats des croisements.

Les différences observées entre les résultats des croisements habituels $AF^+ \times BF^-$ et ceux des croisements en retour (recombinants de la F_1 ou ségrégants de diploïdes hétérozygotes $\times$ type parental) s'expliquent par le fait qu'il s'agissait, dans ce dernier cas, de croisements $AF^+ \times BF^+$. Il convient de noter à ce propos que les résultats des croisements $F^+ \times F^+$ sont particulièrement difficiles à interpréter : il semble, en effet, que les bactéries de l'une ou de l'autre souche jouent alternativement le rôle de bactéries F^- . Un croisement $AF^+ \times BF^+$ peut donc être comparé à un mélange des composants $AF^+ \times BF^-$ et $AF^- \times BF^+$, les proportions relatives de ces deux composants dépendant des souches en présence et des conditions expérimentales (Hayes, 1953a).

Les anomalies observées dans la constitution génétique des diploïdes hétérozygotes isolés de certains croisements apparaissent également comme étant une conséquence de la polarité génétique. En effet, les caractères qui se trouvent à l'état hémizygote chez les diploïdes incomplets sont, en général, ceux du type parental F^- . Tout se passe donc comme si, lors de la constitution de ces diploïdes aberrants, un segment chromosomique du type parental F^+ avait été éliminé (Lederberg, Cavalli et Lederberg, 1952 ; Nelson et Lederberg, 1954).

Enfin, les difficultés que l'on rencontrait lorsque l'on tentait de localiser des caractères génétiques sont aussi, dans une certaine mesure, la conséquence de la polarité génétique. Les relations de liaison ne peuvent valablement être établies qu'entre caractères génétiques provenant des bactéries donatrices. Un recombinant génétique possède surtout les caractères génétiques des bactéries réceptrices et certains caractères seulement du type parental F^+ : les caractères utilisés pour la sélection des recombinants et des caractères qui leur sont liés. Le fait que, dans une sélection donnée, des caractères génétiques des bactéries F^- ségrègent ensemble n'est pas une preuve suffisante pour conclure que ces

caractères sont étroitement liés. Il indique seulement que, dans cette sélection, les allèles correspondants du type parental donateur ne sont qu'exceptionnellement transmis à des recombinants. On peut donc n'avoir affaire qu'à une liaison apparente, à un pseudo-linkage (Wollman, 1953).

*
* *

La recombinaison génétique chez *E. coli* K12 se fait entre bactéries appartenant à des types sexuels différents. Il s'agit donc d'un système *hétérothallique* et non d'un système *homothallique* ainsi qu'il avait pu d'abord sembler. Cette différenciation sexuelle a des conséquences fonctionnelles, comme le démontre l'expérience fondamentale de Hayes sur l'effet différentiel de la streptomycine : le transfert de matériel génétique se fait à sens unique de bactéries donatrices à des bactéries réceptrices. Contrairement à ce qui s'observe chez les autres organismes, la différenciation sexuelle a également des conséquences génétiques puisque les deux types parentaux mis en jeu dans un croisement participent inégalement à la constitution génétique des recombinants.

Ces faits essentiels devaient conduire, ainsi qu'il sera indiqué plus loin, à modifier la représentation simple qui avait servi d'hypothèse de travail à Lederberg et Tatum dans leur étude de la recombinaison génétique chez les bactéries.

II. — POLARITÉ SEXUELLE ET LYSOGÉNIE

Dans les croisements entre bactéries lysogènes et bactéries non lysogènes, il avait été observé que le caractère lysogène ségrégeait parmi les recombinants. De plus, il semblait exister une liaison entre le caractère lysogène et certains déterminants de l'utilisation du galactose : gal_4^- (Lederberg et Lederberg, 1953), gal_a^- (Wollman, 1953). Selon l'hypothèse d'une fusion cellulaire, ces faits plaidaient en faveur d'une interprétation chromosomique du déterminisme génétique de la lysogénie. Il était donc nécessaire d'étudier l'incidence que la différenciation sexuelle et ses conséquences génétiques pouvaient avoir sur les résultats obtenus, de manière à vérifier le bien-fondé de cette interprétation.

Quoique le type sexuel des souches utilisées par Lederberg et Lederberg (1953) ne soit pas mentionné, il semble que la plupart des croisements réalisés par ces auteurs, comme ceux que nous avons réalisés nous-mêmes (Wollman, 1953) aient été soit du type $F^+(ly)^- \times F^+(ly)^+$, soit du type $F^+(ly)^- \times F^-(ly)^+$. Dans les croisements du premier type, où les recombinants lysogènes et non lysogènes peuvent être formés dans

des proportions comparables, chacun des types parentaux est alternativement, ainsi qu'il a été indiqué, soit donateur, soit récepteur. Il est donc extrêmement difficile d'interpréter les résultats de tels croisements surtout lorsque les caractères étudiés, comme c'était le cas des caractères lysogénie λ et galactose, ne présentent pas de liaisons manifestes avec les caractères utilisés pour la sélection des recombinants.

Dans les croisements du type $F^+(ly)^- \times F^-(ly)^+$, la proportion des recombinants ayant les caractères ly^- et gal^- du type parental F^+ est généralement faible (elle n'excédait jamais 6 % dans nos expériences). Il convenait donc de s'assurer que l'on n'avait pas affaire, là aussi, à un renversement de polarité, dû à l'acquisition du caractère F^+ par une fraction des bactéries F^- (Wollman, 1953).

Pour répondre à ces difficultés, on peut réaliser des croisements entre souches donatrices sensibles à la streptomycine et souches réceptrices résistantes : la stérilisation des bactéries donatrices par la streptomycine permet d'affirmer que les recombinants formés sont bien la conséquence du transfert de caractères génétiques de cette souche donatrice à la souche streptomycino-résistante qui joue exclusivement le rôle de souche réceptrice. Dans les croisements $F^+gal_a^-(\lambda)^-S^s \times F^-gal_a^+(\lambda)^+S^r$ ou $F^+gal_a^-(\lambda)^-S^s \times F^+gal_a^+(\lambda)^+S^r$ environ 5 % des recombinants formés avaient les caractères $gal_a^-(\lambda)^-$ du type parental donateur. Au contraire, dans les croisements $F^+gal_a^+(\lambda)^+S^s \times F^+gal_a^-(\lambda)^-S^r$ aucun recombinant possédant à la fois les caractères gal^+ et $(\lambda)^+$ des bactéries donatrices n'était formé (Wollman, 1953 et résultats inédits).

L'asymétrie qui se manifestait dans les résultats des croisements entre bactéries lysogènes et bactéries non lysogènes, selon que le prophage λ était porté par les bactéries donatrices ou par les bactéries réceptrices, rendait difficile l'interprétation de tels croisements. Il semblait, en effet, que seul le caractère « non lysogène » pût être transmis des bactéries donatrices aux recombinants génétiques. Pour que la liaison observée entre lysogénie et galactose prît toute sa signification et permît de conclure à la détermination de la lysogénie par le prophage lui-même, locus nucléaire, il fallait qu'il fût possible de transférer à la fois les caractères lysogénie et galactose d'une souche F^+ à une souche F^- (Wollman, 1953).

Des croisements mettant en œuvre des bactéries de types sexuels connus furent également réalisés par Frédéricq (1953) et par Appleyard (1954a) qui confirmèrent l'existence d'une liaison génétique entre les caractères lysogénie λ et gal_a . Étudiant la ségrégation, au cours de croisements, de la lysogénie pour un certain phage tempéré α , Frédéricq (1953) observa que le caractère lysogénie α ségrégeait indépendamment du caractère lysogénie λ et semblait lié à un déterminant qui gouverne l'utilisation du xylose.

Ayant à sa disposition des souches non lysogènes F^+ et F^- et des mutants différents (λ_s et λ_{cl}) du phage tempéré λ , Appleyard put réaliser des croisements dans les différentes combinaisons possibles :

- 1) $F^+(\lambda)^- \times F^-(\lambda)^-$,
- 2) $F^+(\lambda)^- \times F^-(\lambda)^+$,
- 3) $F^+(\lambda)^+ \times F^-(\lambda)^-$,
- 4) $F^+(\lambda)^+ \times F^-(\lambda)^+$,

où les souches mises en œuvre sont lysogènes pour des mutants différents du phage λ . Dans les croisements des types 1, 2 et 4, le caractère gal_a^- du type parental F^+ était transmis à 3 % environ des recombinants prototrophes. Dans les croisements des types 2 et 4, les caractères $(\lambda)^-$ et $(\lambda)^+$ du type parental F^+ se retrouvaient, parmi les recombinants formés, dans des proportions identiques, et en association étroite avec le caractère gal_a^- . Appleyard concluait donc de ces expériences à un déterminisme chromosomique de la lysogénie dont le seul déterminant était le prophage lui-même.

Dans les croisements du type 3, au contraire, la proportion des recombinants ayant reçu les caractères λ^+ et gal_a^- du type parental F^+ était considérablement plus faible (de l'ordre de 0,1 %).

L'ensemble de ces résultats semblait favorable à l'hypothèse du déterminisme chromosomique de la lysogénie. Les expériences d'Appleyard, en particulier, qui montrent que le caractère non lysogène $(\lambda)^-$ et le caractère lysogène $(\lambda)^+$ du type parental F^+ sont transmis aux recombinants avec une fréquence analogue et l'un et l'autre en association avec le caractère gal_a^- des bactéries donatrices lorsque les bactéries réceptrices sont lysogènes, paraissaient indiquer que le déterminant chromosomique de la lysogénie était le prophage lui-même. Le fait, également, qu'après lysogénisation de bactéries sensibles, le caractère lysogénie λ parût, dans tous les cas, être lié aux déterminants génétiques de l'utilisation du galactose, semblait indiquer qu'il existait bien un locus spécifique du prophage (Appleyard, 1954a ; Frédéricq, 1954 ; E. Lederberg, 1954). Cependant, l'ambiguïté inhérente aux croisements F^+ et F^- , l'ignorance dans laquelle on se trouvait quant au mécanisme du phénomène de recombinaison génétique, les difficultés que l'on éprouvait à localiser de nombreux caractères génétiques et, en particulier, les caractères gal , dans les croisements à basse fréquence, et, surtout, l'asymétrie que l'on observait dans les résultats des croisements réciproques selon que c'était l'un ou l'autre des types parentaux qui était lysogène, laissaient subsister quelque doute quant au bien-fondé de ces conclusions. Si le prophage λ était bien localisé sur le chromosome bactérien, il devait avoir un comportement différent des

autres facteurs génétiques puisque, dans certains croisements, il semblait ne pouvoir être transmis des bactéries donatrices à des recombinants. On pouvait imaginer que, dans ce cas, la conjugaison avait pour conséquence l'induction du prophage λ , qui se comportait comme un facteur létal. Cette hypothèse, qui devait être vérifiée expérimentalement (voir chapitres VI et VII) par les croisements à haute fréquence de recombinaison (Jacob et Wollman, 1954a ; Wollman et Jacob, 1954a), était indépendamment formulée par Frédéricq (1954) pour rendre compte des anomalies observées dans les résultats des croisements entre bactéries F^+ lysogènes et bactéries F^- non lysogènes.

III. — POLARITÉ SEXUELLE ET FERTILITÉ BACTÉRIENNE

La seule recherche systématique de souches fertiles dans le groupe *Escherichia coli* est celle qui a été faite par Lederberg (voir chapitre III). Parmi près de 2 000 souches, isolées de milieux naturels, 5 % environ étaient capables de donner des recombinants lorsqu'elles étaient croisées avec une même souche F^- d'*E. coli* K12 (Lederberg et Tatum, 1953). Ces souches sont donc, selon toute apparence, F^+ , comme l'est la souche sauvage K12 d'*E. coli*. La technique utilisée, qui consistait à sélectionner des recombinants prototrophes et streptomycino-résistants, n'est pas applicable aux croisements entre bactéries K12 F^+ et souches d'*E. coli* isolées de milieux naturels, ce qui explique qu'aucune recherche de cet ordre n'ait encore été réalisée. Il semble, cependant, vraisemblable, que la plupart des souches sauvages d'*E. coli* soient F^- . C'est le cas de quelques souches couramment utilisées dans certains laboratoires et dont la fertilité a été, de ce fait, recherchée. C'est le cas, en particulier, de la souche étudiée par Cavalli et Heslot (1949), de la souche W utilisée par Davis (1950a) dans ses recherches de génétique biochimique (Cavalli et coll., 1953), de la souche C (Lieb et coll., 1955) et, enfin, de la souche B d'*E. coli* qui a servi aux études classiques sur les bactériophages virulents (de Haan, 1954, 1955). Ces différentes souches peuvent toutes être croisées avec des K12 F^+ et peuvent acquérir de ceux-ci le caractère F^+ . Elles peuvent alors être croisées avec des bactéries F^- de la souche homologue.

Il ne semble pas en être ainsi dans le groupe des *Shigella*. Un grand nombre de souches de *Shigella*, étudiées par Luria et Burrous (1957), sont F^- . Elles peuvent être croisées avec des souches F^+ d'*E. coli* K12 ou C. Elles peuvent, par contact avec ces souches F^+ , acquérir le caractère F^+ et le transmettre à des *E. coli* F^- . Cependant, les *Shigella* F^+ ne forment pas de recombinants lorsqu'elles sont mélangées, soit à des *Shigella* F^- , soit à des *E. coli* F^- .

Des phénomènes de recombinaison génétique comportant également un système de compatibilité sexuelle ont été décrits dans le groupe des *Pseudomonas aeruginosa* (Holloway, 1955, 1956) et dans celui des *Serratia marcescens* (Belser et Bunting, 1956). Aucune différenciation sexuelle n'a par contre été mise en évidence dans le cas de *Streptomyces coelicolor* chez lequel des phénomènes de recombinaison génétique ont été démontrés (Sermonti et Sermonti, 1956). Quant aux indications concernant l'existence de phénomènes de recombinaison génétique chez *Achromobacter fischerii* (Mc Elroy et Friedman, 1951), elles n'ont pas encore reçu confirmation.

L'existence de phénomènes de conjugaison et de recombinaison génétique chez les bactéries n'est donc pas exceptionnelle. Les difficultés de leur mise en évidence qui tiennent, d'une part, à la faible fréquence de la recombinaison, d'autre part, à l'existence de systèmes plus ou moins complexes de compatibilité sexuelle, en ont jusqu'à maintenant limité l'étude. Dans le groupe des *E. coli*, cependant, et dans celui des *Shigella*, la capacité à participer au processus de conjugaison semble être assez largement répandue.

La découverte de ces phénomènes ne datant que d'une dizaine d'années, la plupart des travaux se sont attachés à en analyser les caractéristiques et à en étudier le mécanisme avec une seule souche d'*E. coli*. Ce n'est que lorsque cette analyse aura suffisamment progressé que l'on peut espérer voir cette étude s'étendre à d'autres groupes bactériens.

IV. — LES HYPOTHÈSES CONCERNANT LE MÉCANISME DE LA RECOMBINAISON GÉNÉTIQUE

La différenciation sexuelle chez les bactéries et les conséquences génétiques qu'elle entraîne ont reçu des interprétations différentes que nous allons brièvement résumer. On peut distinguer, d'une part, les hypothèses formulées par Lederberg et Cavalli qui interprètent la recombinaison génétique chez les bactéries comme étant la conséquence d'un processus sexuel classique et, d'autre part, les hypothèses formulées par Hayes, selon lesquelles ce serait le mécanisme même de la conjugaison qui serait différent chez les bactéries.

Il semble que ce soit l'attention plus particulière portée par Hayes aux croisements $F^+ \times F^-$ et par Lederberg aux cas des diploïdes hétérozygotes qui ait orienté l'interprétation donnée par chacun d'eux de la polarité génétique et de l'influence de la différenciation sexuelle sur la formation des recombinants.

A. — *Hypothèses de Lederberg et Cavalli.*

1) **La différenciation sexuelle.** — Elle serait surtout l'expression d'un système de compatibilité sexuelle dont dépendrait la fertilité d'un croisement donné. Si les souches F^- ne sont pas compatibles entre elles, différentes souches F^+ posséderaient des « degrés de fertilité » différents selon la conception de la sexualité relative de Hartmann (1929). Un croisement serait d'autant plus fertile que les souches mises en présence ont des « degrés de fertilité » plus éloignés (Lederberg, Cavalli et Lederberg, 1952 ; Cavalli, Lederberg et Lederberg, 1953).

2) **La formation des zygotes.** — La conjugaison aboutirait à la formation d'un zygote complet, contenant la totalité du matériel génétique de chacun des types parentaux. Ce zygote, qui fut d'abord considéré comme résultant de la fusion des cellules parentales, serait surtout constitué par la bactérie F^- qui, à la suite de la conjugaison, aurait été fécondée par un noyau du type parental F^+ (Lederberg, 1955a).

3) **La polarité génétique.** — La formation du zygote serait suivie de caryogamie et de méiose. Tous les zygotes formés seraient donc identiques. Quant à la polarité génétique, elle serait la conséquence d'une élimination *post-zygotique*, portant en général, mais non pas nécessairement, sur des caractères génétiques du type parental F^+ . Cette hypothèse est surtout basée sur les résultats de l'étude des diploïdes hétérozygotes chez lesquels l'élimination porterait le plus souvent sur un certain segment chromosomique qui comprend, en particulier, les caractères maltose (Mal) et streptomycine (Sm). Dans certains cas, ce seraient les caractères du type parental F^- qui seraient éliminés et, plus rarement, l'élimination porterait à la fois sur des caractères de chacun des types parentaux. L'élimination serait donc non seulement post-zygotique, mais aussi post-méiotique, c'est-à-dire secondaire à la recombinaison et à la disjonction des chromosomes du zygote (Nelson et Lederberg, 1954 ; Lederberg, 1955a). Cette élimination chromosomique serait sous la dépendance d'un locus spécifique, E, situé sur le chromosome des bactéries F^+ et qui jouerait le rôle d'un facteur létal (Cavalli et Jinks, 1953, 1956).

B. — *Hypothèse de Hayes.*

La représentation proposée par cet auteur comportait initialement trois aspects dont les deux premiers apparaissent aujourd'hui comme étant seuls essentiels (Hayes, 1953a et b).

1) **Transfert à sens unique.** — La différence entre bactéries F^+ et F^- serait plus qu'une différence de type sexuel, puisqu'elle introduit une polarité dans le processus de conjugaison : comme l'indique l'effet différentiel de la streptomycine, le transfert de matériel génétique se ferait à sens unique, des bactéries F^+ donatrices aux bactéries F^- réceptrices.

2) **Transfert partiel de matériel génétique.** — Une partie seulement du matériel génétique des bactéries F^+ serait transférée aux bactéries F^- au cours de la conjugaison, ce qui expliquerait l'inégale contribution des types parentaux à la constitution génétique des recombinants. Les zygotes formés seraient donc incomplets et hétérogènes. En sélectionnant des recombinants ayant hérité tel ou tel caractère des bactéries F^+ donatrices, on réaliserait également une sélection parmi les zygotes, puisqu'on limiterait l'analyse à ceux des zygotes qui ont reçu des bactéries donatrices un segment génétique portant les caractères sélectionnés.

Watson et Hayes (1953) ont cru pouvoir interpréter les résultats des croisements par l'existence de trois groupes de liaison distincts. Comme on peut démontrer l'existence d'interréactions entre ces groupes de liaison supposés être indépendants, Clowes et Rowley (1954b) ont émis l'hypothèse de ruptures se produisant au hasard le long d'un chromosome unique. L'apport des bactéries F^+ aux zygotes serait constitué de fragments chromosomiques dont la longueur et la constitution génétique varieraient d'un zygote à l'autre. Cette hypothèse rendrait compte à la fois de l'existence d'un seul groupe de liaison et du caractère incomplet de la contribution des bactéries F^+ .

3) **Mécanisme du transfert.** — Hayes (1953a et b) avait émis l'hypothèse que le transfert unidirectionnel de segments génétiques pourrait se faire par l'intermédiaire d'un « vecteur » subcellulaire, résistant à l'action de la streptomycine. Ce « gamète » hypothétique ne serait autre que le facteur sexuel F qui pourrait occasionnellement se trouver associé à un segment génétique. Il s'agissait là d'une représentation ingénieuse qui permettait en apparence d'expliquer un grand nombre de faits (faible fréquence de recombinaison, comportement particulier du caractère F , transfert unidirectionnel et transfert partiel, effet « inducteur » de la lumière ultraviolette) et qui rapprochait la recombinaison génétique chez *E. coli* K12 des phénomènes de transduction récemment découverts. Cette hypothèse se heurtait cependant à une difficulté majeure : l'impossibilité où l'on se trouve de dissocier ce gamète hypothétique de la bactérie donatrice elle-même. Force était donc d'admettre l'identité de ces deux éléments.

Les hypothèses proposées par Lederberg et Cavalli d'une part, par Hayes d'autre part, pour rendre compte des particularités de la recombinaison génétique chez les bactéries, conduisent donc à des représentations extrêmement différentes de ce phénomène. Dans la conception de Lederberg et de Cavalli, en effet, la conjugaison bactérienne ne diffère pas fondamentalement des processus sexuels qui existent chez les autres organismes puisqu'elle aboutit à la formation de zygotes complets où les génomes des deux types parentaux sont également représentés. Les particularités que révèle l'analyse des croisements seraient la conséquence d'anomalies du processus de recombinaison génétique lui-même et s'expliqueraient par l'élimination post-méiotique de segments chromosomiques.

Selon la conception de Hayes, au contraire, les anomalies porteraient sur le processus de conjugaison lui-même et non sur les étapes ultérieures qui, dans le zygote, conduisent à la formation de recombinants génétiques. Le mécanisme de la conjugaison différerait donc d'une manière sensible des processus sexuels habituels puisqu'il aboutirait à la formation de zygotes incomplets n'ayant reçu des bactéries donatrices que des fragments de chromosome. La conjugaison bactérienne ressemblerait par certains aspects aux processus de transfert qui ont été décrits dans le chapitre II.

Les effets génétiques de la différenciation sexuelle conduisent donc à des représentations conceptuellement très différentes de la conjugaison et de la recombinaison génétique chez *E. coli* K12, mais ces représentations ont des implications formelles assez semblables lorsqu'il s'agit d'interpréter les résultats numériques des croisements.

Différents expérimentateurs ont interprété ces résultats de manières très diverses. Nous avons déjà signalé l'analyse de Watson et Hayes (1953), qui concluaient à l'existence de trois groupes de liaison indépendants. Le groupe de liaison proposé, d'autre part, par Clowes et Rowley (1954b) est représenté sur la figure 5.

(NI Gal, Ara₁)(Sm Mal₁)(Xyl Man)II M₁M₂B₁ TL Pr Lac.

FIG. 5. — Le groupe de liaison d'*E. coli* K12 (d'après CLOWES et ROWLEY).
Pour la signification des symboles, voir tableau I.

Enfin, mention particulière doit être faite de la remarquable analyse de Cavalli et Jinks (1953, 1956). Ces auteurs sont parvenus à interpréter les résultats de nombreux croisements en faisant l'hypothèse qu'il existe « un seul groupe de liaison au milieu duquel se trouve situé une région ou locus doué d'une propriété remarquable, à savoir que la majorité des recombinants ne recevraient cette région ou locus que d'un seul type parental, le F⁻. De plus, l'appariement des chromosomes

est incomplet et irrégulier ». La carte génétique ainsi établie par Cavalli et Jinks est représentée sur la figure 6.

T Ara₂L AzT₁ Lac₁T₅ Gal₂(E)Sm Mal₁Xyl MB₁.

FIG. 6. — Carte chromosomique d'*E. coli* K12 (d'après CAVALLI et JINKS).
Pour la signification des symboles, voir tableau I.

*
* *

La découverte d'une différenciation sexuelle chez les bactéries éclairait d'un jour nouveau le phénomène de recombinaison génétique. D'une part, elle accentuait le caractère sexuel de ce phénomène et rapprochait les bactéries des autres organismes, chez lesquels les échanges de caractères génétiques et la sexualité sont des phénomènes intimement liés. Elle permettait, d'autre part, d'établir l'existence de relations entre cette polarité sexuelle et les anomalies génétiques qui caractérisent les croisements entre bactéries.

Cette découverte, cependant, soulevait plus de problèmes qu'elle n'en résolvait. Contrairement, en effet, à ce que l'on observe chez les autres organismes, les croisements réciproques, quant au type sexuel des bactéries mises en jeu, ne donnent pas le même résultat. La connaissance du mécanisme de cette polarité génétique commandait, en dernière analyse, toute interprétation des phénomènes de recombinaison chez les bactéries. Les hypothèses proposées, quelque différentes qu'elles fussent, tentaient de rapporter aux événements qui se produisent au cours d'un acte de conjugaison les renseignements obtenus par l'analyse des rares recombinants formés au sein d'énormes populations bactériennes. On conçoit, par conséquent, combien un choix entre ces hypothèses apparaissait difficile. Il semblait, en particulier, que tout espoir d'élucider le mécanisme de la conjugaison fût illusoire aussi longtemps que la recombinaison génétique demeurerait un événement d'une extrême rareté.

C'est, comme on le verra dans la suite de cet exposé, la découverte de souches donatrices à « haute fréquence de recombinaison », qui devait permettre d'analyser le processus de conjugaison chez les bactéries.

TROISIÈME PARTIE

LA RECOMBINAISON GÉNÉTIQUE
A HAUTE FRÉQUENCE

CHAPITRE V

LES CARACTÉRISTIQUES DES CROISEMENTS A HAUTE FRÉQUENCE DE RECOMBINAISON

La recombinaison génétique chez les bactéries, telle que l'ont découverte Lederberg et Tatum, et telle que nous l'avons décrite dans les chapitres qui précèdent, est un phénomène extrêmement rare. Même dans les conditions les plus favorables, le nombre de recombinants génétiques que l'on peut sélectionner dans un croisement entre bactéries F^+ et bactéries F^- ne dépasse jamais la proportion d'un recombinant pour cent mille bactéries parentales. Cette basse fréquence de recombinaison semblait interdire tout espoir, non seulement d'observer directement la conjugaison bactérienne mais aussi de parvenir à une représentation satisfaisante des événements qui se déroulent à l'échelon des bactéries individuelles.

La découverte, faite indépendamment par Cavalli d'une part, par Hayes d'autre part, de souches donatrices à haute fréquence de recombinaison (souches Hfr) a permis d'aborder l'étude quantitative de la conjugaison chez les bactéries et a été l'élément essentiel des progrès réalisés dans ce domaine.

I. — DÉCOUVERTE ET PROPRIÉTÉS DES SOUCHES Hfr

C'est parmi des mutants d'*E. coli* K12 résistants à l'ypérite azotée que fut découverte par Cavalli (1950) la première souche Hfr connue. L'un des mutants résistants (qui provenait de la souche $F^+M^-B^-$ classique) formait, lorsqu'il était croisé avec une souche $F^-T^-L^-B_1^-$, de 100 à 1 000 fois plus de recombinants que la souche F^+ dont il était issu : d'où l'appellation de Hfr pour haute fréquence de recombinaison. Cette souche Hfr était assez instable et mutait vers le type initial F^+ . Il n'exis-

tait pas de relation entre le caractère Hfr et la résistance à l'ypérite azotée, car les autres mutants résistants à l'ypérite n'étaient pas Hfr et les souches F^+ obtenues par réversion de la souche Hfr conservaient leur résistance à l'ypérite azotée.

Quoique la souche Hfr de Cavalli (souche Hfr C) provint d'une souche F^+ et qu'elle fût très fertile lorsqu'on la croisait avec des bactéries F^- , les recombinants formés étaient F^- . De plus, les bactéries Hfr C ne transmettent aux bactéries F^- ni le caractère Hfr, ni le caractère F^+ . « Ainsi, bien qu'elle retourne au type F^+ lorsque se produit une mutation réverse vers la basse fréquence de recombinaison, la souche Hfr devrait être classée comme étant F^- par son incapacité à transmettre le facteur de fertilité F et comme étant fortement F^+ quant à son activité dans la recombinaison » (Cavalli, Lederberg et Lederberg, 1953). Pour Cavalli, la mutation $F^+ \rightarrow$ Hfr avait donc pour effet d'accroître la « fertilité » du croisement. Le fait que les bactéries Hfr ne transmettent, par contact avec des bactéries F^- , ni le caractère F^+ , ni le caractère Hfr, pouvait indiquer que le « facteur F » avait muté vers une forme nouvelle, ou qu'il se trouvait sous une forme « masquée ».

C'est aux travaux de Hayes que nous devons l'essentiel de nos connaissances sur les propriétés des souches Hfr. A partir de la même souche F^+ que Cavalli (souche 58-161), Hayes isola, également par hasard, une souche Hfr (souche Hfr H) qui, par croisement avec une même souche F^- , fournissait 1 000 fois plus de recombinants que ne le faisait la souche F^+ originale (Hayes, 1953b). Hayes confirma les observations de Cavalli et montra que les bactéries Hfr H avaient toutes les propriétés de bactéries donatrices. C'est ainsi qu'un traitement par la streptomycine, qui ne laissait que 10^{-6} à 10^{-7} bactéries Hfr survivantes, ne réduisait guère la fréquence de recombinaison, alors que le même traitement, appliqué aux bactéries F^- , stérilisait complètement le croisement.

Mais surtout, Hayes fit cette constatation remarquable, que la *haute fréquence de recombinaison ne s'observait que dans certaines sélections*. Pour d'autres sélections, on n'observait qu'une basse fréquence de recombinaison, comparable à celle des croisements $F^+ \times F^-$. C'est ainsi que, dans un croisement entre bactéries $HfrHT^+L^+B_1^+M^-S^r$ et $F^-T^-L^-B_1^-M^+S^s$, les recombinants $T^+L^+M^+$ étaient formés à haute fréquence et les recombinants $T^+L^+B_1^+M^+$ à basse fréquence (1). Lorsque

(1) Rappelons que les symboles utilisés ont la signification suivante (voir tableau I) : T (thréonine), L (leucine), B_1 (vitamine B_1), M (méthionine), S (streptomycine). On trouvera des indications complémentaires, aussi bien pour ce qui concerne la nomenclature que les méthodes expérimentales, dans la section de ce chapitre qui leur est consacrée.

les deux souches parentales différaient, en outre, par d'autres caractères — tels que le pouvoir d'utiliser le lactose (Lac) ou la sensibilité au nitrure de sodium (Az) — on retrouvait, parmi les recombinants $T^+L^+M^+$ formés à haute fréquence, les caractères Az et Lac du type parental Hfr, mais non les allèles B_1^+ ou Sr de ce même type parental. Lorsque des bactéries Hfr H prototrophes et streptomycino-sensibles (S^s) étaient croisées, d'une part, avec des bactéries $F^-T^-L^-B_1^-S^r$ et, d'autre part, avec des bactéries $F^-M^-S^r$, le même phénomène apparaissait clairement : les recombinants $T^+L^+B_1^+S^r$ ou M^+S^r n'étaient formés qu'à basse fréquence. Tout se passait donc comme si, dans un croisement $Hfr\ H \times F^-$, *certaines caractères génétiques seulement* (T, L, Az, Lac) *pouvaient être transmis, à haute fréquence, à des recombinants, alors que d'autres caractères* (B_1 , M, S) *ne pouvaient être transmis qu'à basse fréquence* (Hayes, 1953b).

Hayes fit également les observations suivantes.

1) Les recombinants génétiques formés à haute fréquence sont, en général, F^- , alors que, parmi les recombinants génétiques formés à basse fréquence, certains sont F^- et d'autres Hfr.

2) L'irradiation des bactéries Hfr par la lumière ultraviolette n'augmente pas le nombre des recombinants formés à haute fréquence. Elle augmente, par contre, le nombre des recombinants formés à basse fréquence, dans des proportions comparables à ce que l'on observe lorsque l'on irradie le type parental F^+ dans un croisement $F^+ \times F^-$.

3) La fréquence de recombinaison est dix fois plus faible dans un croisement $Hfr \times F^+$ que dans le croisement $Hfr \times F^-$ homologue.

Les propriétés des souches Hfr illustrent les deux caractères essentiels du processus de conjugaison chez *E. coli* K12, tels qu'ils ont été établis par les travaux de Hayes.

a) D'une part, le transfert à sens unique des caractères génétiques des bactéries donatrices aux bactéries réceptrices apparaît plus clairement encore que dans les croisements $F^+ \times F^-$.

b) D'autre part, le fait que certains caractères seulement puissent être transmis à haute fréquence à des recombinants s'interprète sans difficulté dans l'hypothèse d'un transfert partiel de matériel génétique au cours de la conjugaison.

Nous allons, dans les paragraphes qui suivent, examiner de plus près les principaux aspects de la recombinaison génétique dans les croisements entre bactéries Hfr et bactéries F^- . Après avoir décrit les méthodes expérimentales, ainsi que le matériel que nous avons utilisés dans nos propres recherches, nous étudierons quelles sont les caractéristiques que permet de dégager l'analyse quantitative des croisements à haute fréquence de recombinaison.

II. — MÉTHODES EXPÉRIMENTALES

Dans un croisement entre bactéries et, plus particulièrement, entre bactéries Hfr et bactéries F^- , le transfert de caractères génétiques semble se faire de *bactéries donatrices* (Hfr ou F^+) à *bactéries réceptrices* (F^-). Le choix des souches et des méthodes utilisées découle, pour une grande part, de ce fait.

A. — Souches bactériennes.

1) **Origine.** — Les différentes souches d'*Escherichia coli* K12 que nous avons utilisées dérivent de trois lignées principales : les souches F^- de la lignée T-L-B₁- (souche Y10) ; les souches F^+ du type sauvage ou du double mutant 58-161 (voir Tatum et Lederberg, 1947) ; quant aux souches Hfr, elles proviennent de la souche Hfr H isolée par Hayes (1953b). Ces souches ont été « marquées », soit par des caractères nutritionnels (besoin en facteurs de croissance ou incapacité à utiliser un glucide), soit par des caractères de résistance à des antibiotiques ou des bactériophages, par les méthodes usuelles d'isolement de mutants (Lederberg, 1950a).

Les principales souches utilisées sont énumérées sur le tableau III.

La souche K12 sauvage et la plupart des mutants qui en dérivent sont lysogènes pour le phage λ . Afin de pouvoir réaliser des croisements entre bactéries lysogènes et bactéries non lysogènes dans toutes les combinaisons possibles, il a été nécessaire de mettre au point une technique de « guérison » des bactéries lysogènes.

Les bactéries que l'on désire « guérir » sont soumises à une forte dose de lumière ultraviolette, de manière à ce qu'il ne reste qu'environ 10^{-5} survivants. Après l'irradiation, la suspension de bactéries est remise en milieu nutritif liquide additionné d'immunsérum anti- λ et incubée à 37° pendant environ trois heures, temps suffisant pour l'expression du caractère « non lysogène ». Des échantillons sont alors étalés sur gélose nutritive. Le caractère lysogène ou non des colonies formées est recherché par « décalque », avec un tampon de velours (Lederberg et Lederberg, 1952), sur des boîtes de géloseensemencées avec des bactéries sensibles au phage λ . La proportion de colonies ne produisant pas de phages est d'environ 1 pour 500 à 1 pour 1 000. Ces colonies sont réisolées et l'on précise leur caractère non lysogène ou défectif (voir Jacob et Wollman, 1956a).

Parmi les souches énumérées sur le tableau III, celle dont il sera le plus question dans la suite de cet exposé est la souche P678. Elle a été obtenue à partir de la souche W677 par « réversion » du caractère Gal_5^- , sélection, après irradiation par la lumière ultraviolette, d'un mutant galactose- dont le caractère Gal_b^- fut lié au prophage λ [ce caractère Gal_b^- est différent du caractère Gal_a^- de la souche 112 (Wollman, 1953)], puis isolement d'un mutant non lysogène par la technique qui vient d'être décrite.

2) **Nomenclature.** — Comme il est d'usage en génétique bactérienne, on désigne les caractères par la ou les premières lettres de leur nom (voir tableaux I et III). Pour les caractères nutritionnels ou fermentaires, le pou-

voir de synthétiser un métabolite essentiel ou d'utiliser un glucide est représenté par le symbole du caractère, suivi du signe +, l'absence de ce pouvoir étant représentée par le signe — (exemple : T-L-B₁⁻, déficience pour la synthèse de la thréonine, de la leucine, de la vitamine B₁; Lac⁻, Gal_b⁻ : non utilisation du lactose, du galactose). De même, on indique par s la sensibilité et par r la résistance à un antibiotique (S, streptomycine; Az, nitrure de sodium) ou à un bactériophage (T₁, T₃, T₆).

TABLEAU III

Souches utilisées.

Désignation	Caractères	Origine	Référence
<i>E. coli</i> K12.			
Souches Hfr H :			
HfrH (λ) ⁺ .)	Prototrophe	Hfr H	Hayes, 1953b.
HfrH (λ) ⁻ .)		Hfr H(λ) ⁺	Jacob et Wollman,
HfrH (λd) .)		Hfr H(λ) ⁺	1956b.
Souches F ⁺ :			
58-161 . . .	M-(λ) ⁺		Tatum et Lederberg,
112	C-H-Gal _a -(λ) ⁻		1947.
			Wollman, 1953.
Souches F ⁻ :			
Y10	T-L-B ₁ -T ₁ ^r Lac ⁻ (λ) ⁺	Y10	Tatum et Lederberg,
			1947.
C600	T-L-B ₁ -T ₁ ^r Lac ⁻ (λ) ⁻	Y10	Appleyard, 1954a.
P14	T-L-B ₁ -T ₁ ^r Lac ⁻ (λd)	Y10	Jacob et Wollman,
			1956a.
P678(λ) ⁻ et } P678(λ) ⁺ . }	T-L-Az ^r T ₁ ^r Lac-Gal _b ⁻ } Mal-Xyl-Man-Ara-B ₁ -λ ^r }	W677	Hayes, 1953a.
<i>E. coli</i> C.	Prototrophe		Weiglé et Bertani, 1953.

Les symboles utilisés ont la signification suivante (voir tableau I) : incapacité de synthétiser la méthionine (M⁻), la cystine (C⁻), l'histidine (H⁻), la thréonine (T⁻), la leucine (L⁻), la vitamine B₁ (B₁⁻); absence de fermentation du galactose (Gal⁻), du lactose (Lac⁻), du maltose (Mal⁻), du xylose (Xyl⁻), du mannitol (Man⁻), de l'arabinose (Ara⁻); résistance aux phages T₁ (T₁^r), λ(λ^r); lysogénie pour le phage λ (λ)⁺, non lysogénie (λ)⁻, souche lysogène déficiente (λd)⁺.

Pour simplifier la nomenclature, lorsqu'une même souche est fréquemment utilisée sous des formes différentes (lysogène ou non lysogène, sensible ou résistante à la streptomycine), son appellation n'est pas modifiée : on désigne ainsi P678 S^s, P678 S^r, P678 (λ)⁺, P678(λ)⁻ des souches qui ont essentiellement le même génotype et qui diffèrent entre elles par les caractères explicitement

mentionnés. Notons que le caractère lysogène pour un phage défini est représenté par le symbole du phage entre parenthèses, suivi du signe +, le caractère non lysogène étant représenté par le signe —.

B. — Cultures bactériennes.

1) **Milieu de culture.** — Les milieux utilisés dérivent tous de deux milieux de base :

a) *Un milieu complet* : macération de viande, 100 ml; peptone Uclaf, 10 g; NaCl, 10 g; eau, q.s. pour 1 000; ajusté à pH 7. Ce milieu est solidifié par addition de gélose (milieu GN) : 12 g/l pour la préparation des boîtes de Petri destinées à la numérotation des bactériophages; 20 g/l pour les milieux destinés à la numérotation des bactéries ou à leur caractérisation. La gélose molle utilisée pour les étalements en double couche est à 7 g/l.

b) *Milieu synthétique* : KH_2PO_4 , 6,8 g; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0,1 g; $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, 1 g; $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$, 0,01 g; $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0,0005 g; eau bidistillée, q.s. pour 1 000. Ajusté à pH par KOH. Toutes les dilutions sont faites dans ce milieu dilué à 1/20 en eau bidistillée (tampon).

Ce même milieu est solidifié par addition de 15 g de gélose Difco par litre (milieu GS). La gélose molle utilisée pour les étalements est à 7 g de gélose Difco par litre.

2) **Techniques de culture.** — Toutes les expériences sont réalisées avec des cultures en voie de croissance exponentielle. Les milieux de culture, répartis soit dans des fioles d'Erlenmeyer, soit dans des tubes à essais, sont ensemencés au 1/100 avec une culture de la nuit, préparée dans le même milieu. Afin d'obtenir une aération convenable, les cultures sont agitées, sous faible épaisseur, dans un thermostat à 37°. L'évolution de la croissance bactérienne peut être suivie par la mesure de la densité optique dans un électrophotomètre de Meunier. Tant que les bactéries sont dans la phase exponentielle de croissance, les graduations lues sur le tambour de l'appareil sont proportionnelles à la concentration de la suspension bactérienne (Monod, 1942). Avec les souches employées, une unité du tambour de l'appareil correspond, en lumière rouge, à $2 \cdot 10^6$ bactéries par millilitre environ sous une épaisseur de 1 cm.

Au cours de chaque expérience, les bactéries sont dénombrées par étalement sur boîte de Petri.

C. — Croisements bactériens.

Le transfert des caractères génétiques se faisant des bactéries Hfr aux bactéries F^- , on a généralement intérêt à se placer dans des conditions où un nombre donné de bactéries Hfr est mis en présence d'un excès de bactéries F^- . L'évaluation du nombre de recombinants formés, par exemple, se fera par rapport au nombre de bactéries Hfr mises en jeu dans le mélange initial.

1) **Technique des croisements.** — Tous les croisements sont faits en milieu liquide, généralement en bouillon nutritif.

Des cultures des bactéries à croiser, en voie de croissance exponentielle en bouillon, sont centrifugées, remises en suspension en bouillon et mélangées de manière à obtenir une concentration finale de 4.10^8 bactéries F^- et 2.10^7 bactéries Hfr par millilitre, soit un Hfr pour vingt F^- . Le mélange est agité doucement dans un thermostat à 37° . Des échantillons sont prélevés et, après dilution en tampon, étalés sur le milieu approprié. Sauf indication contraire, les étalements sont faits après 60 minutes de contact. En effet, comme on le verra dans l'étude cinétique de la conjugaison bactérienne, celle-ci est achevée après 50 minutes environ dans les conditions expérimentales choisies.

2) **Sélection des recombinants.** — Dans un croisement entre bactéries Hfr H et F^- , certains caractères seulement des bactéries Hfr peuvent être transmis à haute fréquence à des recombinants. Il convient donc de choisir une souche F^- qui porte les allèles (—) de tels caractères (par exemple, les caractères T-L⁻), de manière à pouvoir sélectionner des recombinants ayant acquis du type parental Hfr les allèles (+) correspondants. Sur un milieu synthétique dépourvu des facteurs de croissance dont elles ont besoin, les bactéries F^- sont incapables de former des colonies. Quant aux bactéries donatrices Hfr, dont le rôle consiste seulement à transférer du matériel génétique aux bactéries F^- réceptrices, il convient de les contre-sélectionner. Ceci peut être accompli, soit en utilisant une souche Hfr auxotrophe pour un caractère distinct de ceux des bactéries F^- , soit en ayant recours à un agent antibactérien (inhibiteur, antibiotique ou phage) auquel les bactéries F^- sont résistantes. Quel que soit le caractère de contre-sélection utilisé, il faut, pour que les résultats du croisement ne soient pas grossièrement faussés, que le déterminant génétique de ce caractère ne soit pas transmis, lui aussi, à haute fréquence.

Par exemple, dans un croisement entre bactéries Hfr H T⁺L⁺M⁻S^s et bactéries F^- T⁻L⁻M⁺S^r, où les caractères T⁺L⁺ sont transmis à haute fréquence, la fréquence de recombinaison observée est identique, que l'on sélectionne les recombinants T⁺L⁺M⁺ ou les recombinants T⁺L⁺S^r, car ni le caractère M (méthionine), ni le caractère S (streptomycine) ne sont transmis à haute fréquence par les bactéries Hfr H (Hayes, 1953b). La plupart des croisements qui vont être décrits ont été réalisés entre bactéries Hfr H S^s et bactéries F^- P678 S^r, la streptomycine étant utilisée comme agent de contre-sélection des bactéries Hfr.

Lorsque les bactéries Hfr et F^- diffèrent par plusieurs caractères qui peuvent servir indépendamment à la sélection de recombinants, on peut, au cours d'un même croisement, réaliser plusieurs sélections. Ainsi, dans un croisement Hfr H S^s $\times$ F^- P678 S^r, on sélectionne en règle générale, et pour des raisons qui seront indiquées plus tard, à la fois des recombinants T⁺L⁺S^r et des recombinants Gal⁺S^r. Les premiers sont obtenus en étalant des échantillons du mélange de bactéries sur milieu GS *glucosé* (10 g/l) additionné de thiamine (1 μ g/ml) et de streptomycine (150 μ g/ml), les recombinants Gal⁺S^r par étalement sur milieu GS *galactosé* (10 g/l) additionné de l-thréonine et de dl-leucine (80 μ g/ml), de thiamine et de streptomycine. Notons que les caractères T (thréonine) et L (leucine) sont situés si près l'un de l'autre qu'ils sont, en général, utilisés simultanément pour la sélection de recombinants. Le carac-

tière Gal_b, contrairement à la plupart des caractères qui gouvernent l'utilisation de glucides, peut être sans danger utilisé comme seul sélecteur, d'une part, parce que la présence de galactose inhibe la croissance résiduelle des bactéries Gal_b⁻ et, d'autre part, parce que la réversion de ce caractère est extrêmement rare.

Les étalements sont réalisés en ajoutant un volume mesuré avec soin d'une dilution convenable du mélange de bactéries, dans 3 cm³ de milieu gélosé GS à 7 g %₀₀, maintenu en surfusion dans un bain-marie à 42°. Le contenu de ce tube est alors versé sur la boîte de Petri contenant du milieu GS sélecteur. Après durcissement de la gélose, les boîtes sont portées à l'étuve à 37° où elles sont conservées 48 heures. Les colonies de recombinants sont alors dénombrées.

Les résultats d'un croisement sont évalués en rapportant le nombre de recombinants obtenus, dans une sélection donnée, au nombre de bactéries du type parental minoritaire mis en jeu au début du croisement. Pour une sélection donnée, on appellera donc *fréquence de recombinaison*, le rapport « nombre de recombinants pour cent bactéries initiales du type minoritaire » c'est-à-dire, en général, pour cent bactéries Hfr initiales.

3) **Analyse génétique des recombinants.** — Cette analyse a pour but de déterminer les proportions dans lesquelles apparaissent, chez les recombinants formés, les caractères génétiques non sélectionnés des bactéries Hfr donatrices.

Les recombinants sont d'abord réisolés sur le même milieu que celui qui a servi à leur sélection, puis, à l'aide d'une grille, disposés régulièrement sur la surface d'une boîte de Petri contenant ce même milieu. Après croissance, des « décalques » de la boîte sont portés, à l'aide d'un tampon de velours (Lederberg et Lederberg, 1952) sur des boîtes de Petri contenant une série de milieux qui permettent de déterminer les caractères génétiques de ces recombinants :

- a) caractères nutritionnels : milieu GS sélectif correspondant;
- b) fermentation des glucides : milieu GN additionné du glucide correspondant (10 g/l) et de 30 ml/l d'indicateur universel « Prolabo » (coloration jaune, fermentation; coloration verte, absence de fermentation);
- c) résistance ou sensibilité :
 - au nitrure de Na : milieu GN + NaN₃(M/850),
 - à un bactériophage : milieu GN recouvert du phage considéré.

Pour une sélection donnée, on analyse ainsi de 100 à 400 recombinants, suivant l'importance du croisement et la fréquence de transmission du caractère étudié.

Les résultats sont exprimés en « pourcentage des recombinants sélectionnés ayant hérité du type parental Hfr chacun des caractères génétiques analysés ». On exprimera par le terme « *constitution génétique des recombinants* » cette fréquence avec laquelle différents caractères non sélectionnés des bactéries Hfr sont transmis aux recombinants formés dans une sélection donnée.

III. — LE SYSTÈME GÉNÉTIQUE BACTÉRIES Hfr H—BACTÉRIES F⁻ : LE SEGMENT CHROMOSOMIQUE TL-Gal

Dans un croisement entre bactéries Hfr H et bactéries F⁻, on peut mesurer, d'une part, la *fréquence de recombinaison*, c'est-à-dire le nombre de recombinants formés dans une ou plusieurs sélections et, d'autre part, la *constitution génétique des recombinants* obtenus, c'est-à-dire la distribution, parmi ces recombinants, des différents caractères non sélectionnés provenant du type parental Hfr. Nous examinerons d'abord les caractéristiques des croisements entre bactéries non lysogènes, où aucune complication, qui pourrait être due à la présence d'un prophage, ne peut se produire.

A. — *Les recombinants T⁺L⁺S^r* *et les caractères génétiques transmis à haute fréquence* *par les bactéries Hfr H.*

Parmi les caractères transmis à haute fréquence par les bactéries Hfr H se trouvent les caractères T, L, Az, Lac (Hayes, 1953b). Soit donc un croisement entre des bactéries F⁻ P678 qui sont marquées par les caractères T⁻L⁻B₁⁻ Az^r T₁^r Lac⁻ Gal_b⁻ Mal⁻ Xyl⁻ Man⁻ S^r λ^r T₃^r et des bactéries Hfr H prototrophes ayant les caractères inverses. Les deux souches mises en œuvre sont l'une et l'autre non lysogènes. Après 60 minutes de contact, des échantillons du mélange sont étalés sur milieu GS glucosé additionné de vitamine B₁ et de streptomycine, de manière à sélectionner les recombinants T⁺L⁺S^r formés à haute fréquence. Au cours de croisements répétés de ce type, la fréquence avec laquelle sont formés les recombinants T⁺L⁺S^r est de l'ordre de 10 %.

L'analyse génétique de ces recombinants révèle que la totalité d'entre eux possèdent certains caractères du type parental F⁻ : c'est le cas des caractères Mal⁻ Xyl⁻ Man⁻ B₁⁻ λ^r T₃^r. Les allèles correspondants du type Hfr n'apparaissent pas parmi les recombinants T⁺L⁺S^r. D'autres caractères du parent Hfr sont transmis aux recombinants T⁺L⁺S^r et ceci dans des proportions qui sont remarquablement constantes d'un croisement à l'autre : c'est ainsi que le caractère Az^s est transmis dans environ 90 % des cas, le caractère T₁^s dans 70 %, le caractère Lac⁺ dans 45 % et le caractère Gal_b⁺ dans 25 % des cas. Ainsi se trouvent définis *deux groupes de caractères génétiques*, ceux qui peuvent être transmis à haute fréquence, des bactéries Hfr H aux recombinants T⁺L⁺S^r, et ceux qui ne sont pas transmis à ces recombinants. Dans l'hypothèse selon laquelle tous les caractères génétiques d'*E. coli* K12

sont situés sur un même groupe de liaison, on peut admettre, en première approximation, que c'est sur ce groupe de liaison qu'il existe deux segments distincts.

Les caractères génétiques qui sont transmis des bactéries Hfr H aux recombinants $T^+L^+S^r$ se retrouvent parmi ceux-ci dans des proportions différentes et qui sont caractéristiques de chacun d'eux. Ces caractères peuvent donc être ordonnés selon leurs fréquences relatives de transmission aux recombinants $T^+L^+S^r$. Cet ordre, selon toute vraisemblance, est le reflet de leurs distances relatives aux caractères T^+L^+ sélecteurs. Ainsi se trouve défini un *groupe de liaison linéaire des caractères transmis à haute fréquence par les bactéries Hfr H*. Sur ce groupe de liaison, les plus distants, parmi les caractères qui distinguent les bactéries Hfr H des bactéries F^- P678, sont, d'une part, les caractères TL et, d'autre part, le caractère Gal_b (Wollman et Jacob, 1954a). Pour la commodité de l'expression, ce groupe de liaison et le segment chromosomique qui le porte seront donc appelés segment TL-Gal (fig. 7).

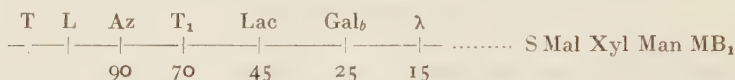


FIG. 7. — Le segment chromosomique TL-Gal.

Les caractères sont disposés sur ce segment selon leur fréquence d'apparition (en pour cent) parmi les recombinants $T^+L^+S^r$. Les caractères non transmis à haute fréquence (moins de 1 % parmi les recombinants $T^+L^+S^r$) sont disposés suivant l'ordre indiqué par Cavalli et Jinks (1956) sur une ligne en pointillé.

B. — Les recombinants Gal^+S^r et la polarité du segment chromosomique TL-Gal.

Dans un croisement entre bactéries Hfr H S^s et bactéries F^- P678 S^r , les unes et les autres non lysogènes, on peut sélectionner, d'une part, les recombinants $T^+L^+S^r$, d'autre part, les recombinants Gal^+S^r , et comparer leur fréquence d'apparition et leur constitution génétique. Dans des échantillons prélevés après une heure de contact, la fréquence des recombinants Gal^+S^r est de 2,5 % environ, alors que la fréquence des recombinants $T^+L^+S^r$ est de l'ordre de 10 % (tableau IV). Dans un même croisement, la fréquence de recombinaison varie donc suivant la sélection réalisée.

L'analyse génétique des recombinants Gal^+S^r montre que ceux-ci, pas plus que les recombinants $T^+L^+S^r$ n'héritent de certains caractères génétiques du type parental Hfr, tels que les caractères Mal^+ ou Xyl^+ . Quant à ceux des caractères non sélectionnés qui sont transmis aux recombi-

TABLEAU IV

Cinétique de la formation de recombinants
au cours de croisements Hfr H(λ)⁻S^s × F⁻(λ)⁻S^r.

Echantillons prélevés et étalés à temps <i>t</i> minutes	Fréquences de recombinaison dans les croisements		
	Hfr H(λ) ⁻ × P678(λ) ⁻		Hfr H(λ) ⁻ × C600
	Recombinants		Recombinants
	T ⁺ L ⁺ S ^r	Gal ⁺ S ^r	T ⁺ L ⁺ S ^r
10	1,9	0,34	3
20	4	1	6,3
40	8,4	2,3	15,6
60	9,3	2,4	18

Des cultures, en voie de croissance exponentielle, des bactéries Hfr H(λ)⁻ et F⁻(λ)⁻ sont mélangées à temps 0 en proportions convenables, de manière à ce que le mélange contienne 4.10⁸ bactéries F⁻ et 2.10⁷ bactéries Hfr par millilitre. Ce mélange, en bouillon, est agité dans un bain-marie à 37°. A des temps variables, des échantillons sont prélevés, dilués et immédiatement étalés sur milieu GS glucosé additionné de thiamine et de streptomycine (recombinants T⁺L⁺S^r) et sur milieu GS galactosé additionné de thréonine, de leucine, de thiamine et de streptomycine (recombinants Gal⁺S^r). A temps 0, on réalise également une numération des bactéries Hfr qui permet de déterminer le nombre initial de bactéries Hfr présentes dans le mélange, et, par conséquent, les fréquences de recombinaison.

nants T⁺L⁺S^r, ils se retrouvent, parmi les recombinants Gal⁺S^r, en proportions sensiblement égales et élevées (tableau V). S'il est par conséquent aisé, en analysant les recombinants T⁺L⁺S^r, d'établir l'ordre relatif des caractères portés par le segment TL-Gal, il n'en est plus ainsi dans le cas des recombinants Gal⁺S^r, puisque les différents caractères portés par ce segment s'y retrouvent avec des fréquences semblables.

Il semble exister une relation entre les différences que l'on observe dans les fréquences de formation des recombinants T⁺L⁺S^r et Gal⁺S^r, et les différences que révèle l'analyse génétique de ces recombinants. En effet, les recombinants Gal⁺S^r sont quatre fois moins nombreux que les recombinants T⁺L⁺S^r, mais plus de 70 % d'entre eux possèdent aussi les caractères T⁺L⁺ du type parental Hfr. La transmission du caractère Gal⁺ des bactéries Hfr à des recombinants est donc moins probable

que celle des caractères T^+L^+ et, lorsqu'un recombinant a hérité le caractère Gal^+ , il y a une probabilité élevée pour qu'il ait également hérité les caractères T^+L^+ . Il existe donc une *polarité génétique* le long du segment $TL-Gal$, polarité dont l'expression numérique peut être trouvée dans le rapport du nombre des recombinants $T^+L^+S^r$ au nombre des recombinants Gal^+S^r formés dans le même croisement (Wollman et Jacob, 1957).

TABLEAU V

*Constitution génétique des recombinants
formés dans un croisement entre bactéries $Hfr(\lambda)^-S^s$ et $P678(\lambda)^-S^r$.*

Type de recombinants	Fréquence de recombinaison	Fréquence (en %) des caractères du Hfr							
		T^+L^+	Az^s	T_1^s	Lac^+	Gal^+	Mal^+	Xyl^+	Man^+
$T^+L^+S^r$	9,3	100	91	72	48	27	0	0	0
Gal^+S^r	2,4	83	78	79	81	100	0	0	0

On entend par constitution génétique d'un type donné de recombinants (voir texte), la fréquence avec laquelle se retrouvent, parmi ces recombinants, les caractères génétiques du type parental donateur Hfr. La fréquence de recombinaison indiquée dans la deuxième colonne est la fréquence des recombinants dans les échantillons prélevés à 60 minutes.

C. — Cinétique de la formation des recombinants génétiques.

Les observations qui précèdent ont été faites sur des recombinants formés par des échantillons qui avaient été prélevés après une heure de contact entre les bactéries mises en œuvre dans un croisement. Nous allons maintenant examiner comment évolue le nombre des recombinants formés, en fonction du temps qui s'écoule après le mélange des bactéries parentales.

Des bactéries $Hfr\ H\ S^s$ et $F^- P678\ S^r$, les unes et les autres non lyso-gènes, sont mélangées dans les conditions habituelles d'un croisement ($4 \cdot 10^8$ bactéries F^- et $2 \cdot 10^7$ bactéries Hfr par millilitre). A temps variables après le mélange, des échantillons sont prélevés, dilués, puis étalés sur milieux sélectifs, afin d'évaluer le nombre des recombinants $T^+L^+S^r$ d'une part, Gal^+S^r d'autre part. Les résultats d'une telle expérience sont rapportés sur le tableau IV et la figure 8.

On voit que le nombre des recombinants T⁺L⁺S^r d'une part, Gal⁺S^r d'autre part, augmente régulièrement depuis le moment où les bactéries parentales ont été mélangées jusqu'à la 50^e minute environ. Ce nombre demeure ensuite constant pendant plus d'une heure. Ce n'est que 140 minutes environ après le début de l'expérience que le nombre des recombinants augmente à nouveau pour doubler ensuite toutes les 40 minutes environ.

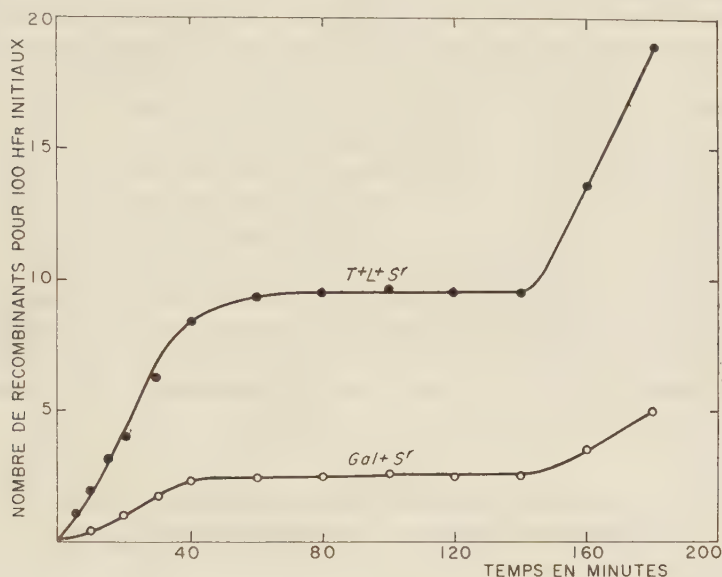


FIG. 8. — La cinétique de formation des recombinants génétiques dans un croisement entre bactéries non lysogènes Hfr H S^s et F⁻ P678 S^r.

L'expérience est analogue à celles qui sont rapportées sur le tableau IV, mais 70 minutes après le mélange des bactéries, le tube initial (tube 1) est dilué à 1/50 dans du bouillon au dixième. Cette dilution (tube 2) est agitée à 37° comme le tube initial et, jusqu'à 120 minutes, on prélève des échantillons des deux tubes. À partir de 120 minutes, les prélèvements sont faits uniquement à partir du tube 2. En abscisse : le temps en minutes après le mélange initial. En ordonnée : le nombre de recombinants génétiques rapporté au nombre initial de bactéries Hfr.

L'examen des courbes de la figure 8 permet de reconnaître trois périodes successives : une première phase ascendante qui exprime la cinétique de la conjugaison, un plateau, puis une seconde phase ascendante qui correspond à la multiplication des recombinants formés. La signification de ces différentes phases sera examinée avec plus de détails dans le chapitre VIII. Trois points, cependant, méritent d'être soulignés dès maintenant.

1) Les courbes qui expriment la cinétique de formation des recom-

binants $T^+L^+S^r$ et Gal^+S^r s'extrapolent à l'origine, ce qui indique que la conjugaison débute dès que les bactéries parentales sont mises en présence.

2) Ces courbes atteignent, l'une et l'autre, un plateau, approximativement au même temps. Une fois ce plateau atteint, le nombre des recombinants reste constant pendant plus d'une heure. Ceci indique que, 50 minutes après le mélange, toutes les bactéries susceptibles de participer à la conjugaison se sont effectivement unies ;

3) Les niveaux des plateaux atteints sont très différents puisque le nombre des recombinants $T^+L^+S^r$ correspond à une fréquence de recombinaison d'environ 10 %, tandis que celui des recombinants Gal^+S^r correspond à une fréquence de recombinaison d'environ 2,5 %. Puisque, au cours d'un même croisement, la fréquence de recombinaison dépend de la sélection réalisée, elle ne constitue qu'une mesure imparfaite de la fréquence de conjugaison dont elle peut tout au plus fixer la limite inférieure (Wollman et Jacob, 1955a ; Jacob et Wollman, 1955a).

Dans les conditions expérimentales choisies, le nombre maximum des recombinants génétiques est donc atteint en moins d'une heure de contact. Ce fait justifie la méthode adoptée qui consiste à dénombrer les recombinants $T^+L^+S^r$ ou Gal^+S^r dans les échantillons prélevés après une heure de contact entre bactéries parentales.

D. — Variations provenant de la nature des souches mises en œuvre dans les croisements $Hfr\ H \times F^-$.

Lorsqu'on réalise des croisements $Hfr\ H \times F^-$ en faisant varier les souches mises en jeu, on observe certaines variations dans les résultats obtenus, variations qu'il est utile de connaître si l'on veut comparer ces résultats entre eux.

1) **Variations dans les fréquences de recombinaisons.** — a) Lorsqu'une même souche $Hfr\ H$ est croisée avec différentes souches F^- , les fréquences de recombinaison observées peuvent varier selon la souche F^- utilisée. C'est ainsi que, dans un croisement $Hfr(\lambda)^- \times C600(\lambda)^-$, la fréquence des recombinants $T^+L^+S^r$ est deux fois plus élevée que dans un croisement $Hfr(\lambda)^- \times P678(\lambda)^-$ (tableau IV).

Comme on peut le voir sur le tableau VI, les fréquences de recombinaison observées sont, dans les quelques cas étudiés, indépendantes du caractère lysogène ou non lysogène des souches F^- , lorsque ces souches sont étroitement apparentées. C'est le cas des souches $P678(\lambda)^+$ et $P678(\lambda)^-$ (croisements 1 et 2). C'est également le cas des souches $Y10(\lambda)^+$, $C600(\lambda)^-$ et $Pr4(\lambda d)^+$ (croisements 3, 4 et 5).

b) Lorsque deux souches Hfr H différentes sont croisées avec une même souche F⁻, les fréquences de recombinaison observées peuvent varier selon la souche Hfr H utilisée. C'est ainsi que lorsque la souche lysogène Hfr H(λ)⁺ d'une part, la souche non lysogène Hfr H(λ)⁻ d'autre part, sont croisées avec une même souche F⁻ lysogène, les fréquences de recombinaison sont deux fois plus élevées dans le premier cas que dans le second. Ceci est vrai (tableau VI) quelle que soit la sélection (croisements 2 et 6) et quelle que soit la souche F⁻ (croisements 4 et 8, 5 et 9) (1).

TABLEAU VI

*Fréquences de recombinaison
observées dans divers croisements Hfr H S^s × F⁻ S^r.*

N°	Croisements	Fréquence des recombinants		Rapport $\frac{T+L+S^r}{Gal+S^r}$
		T+L+S ^r	Gal+S ^r	
1	Hfr(λ) ⁻ × P678(λ) ⁻	9,3	2,4	3,9
2	Hfr(λ) ⁻ × P678(λ) ⁺	9,8	2,1	4,7
3	Hfr(λ) ⁻ × C600(λ) ⁻	18	—	—
4	Hfr(λ) ⁻ × Y10(λ) ⁺	18,8	—	—
5	Hfr(λ) ⁻ × P14(λd) ⁺	17,8	—	—
6	Hfr(λ) ⁺ × P678(λ) ⁺	16,8	3,9	4,3
7	Hfr(λ) ⁺ × P678(λ) ⁻	6,8	0,13	52
8	Hfr(λ) ⁺ × Y10(λ) ⁺	38,9	—	—
9	Hfr(λ) ⁺ × P14(λd) ⁺	37,2	—	—
10	Hfr(λ) ⁺ × C600(λ) ⁻	18	—	—

Les fréquences de recombinaison correspondent toutes à des échantillons prélevés après 60 minutes de contact.

Lorsqu'on compare les résultats de croisements mettant en œuvre des souches différentes, il faut donc tenir compte de ces différences

(1) Il ne sera pas question ici des croisements entre bactéries Hfr H lysogènes et bactéries F⁻ non lysogènes (croisements 7 et 10) qui seront étudiés longuement dans le chapitre VII et qui ne figurent dans le tableau VI que pour mémoire.

dans les fréquences de recombinaison, différences qui tiennent à la nature même des souches utilisées.

2) *Variations dans la constitution génétique des recombinants.*

— Ces variations sont beaucoup moins importantes que les variations dans les fréquences de recombinaison. En particulier, l'ordre et la distance relative des différents caractères portés par le segment TL-Gal, tels qu'on peut les déterminer par l'analyse des recombinants $T^+L^+S^+$, varient dans une assez faible mesure (tableau V). De même, l'analyse des recombinants Gal^+S^+ montre que les différents caractères du segment TL-Gal apparaissent toujours en proportions semblables, quoique ces proportions puissent varier entre 50 et 80 %.

*
* *

Les faits qui viennent d'être rapportés mettent en évidence la caractéristique principale des croisements à haute fréquence de recombinaison : cette caractéristique, c'est l'*asymétrie* dont nous avons déjà été amenés, dans le courant de ce chapitre, à distinguer plusieurs expressions.

La première est la *polarité sexuelle* : lorsque des bactéries Hfr H et des bactéries F^- sont mises en contact, le transfert de matériel génétique se fait à sens unique, des bactéries Hfr donatrices aux bactéries F^- réceptrices, comme le démontre le fait que la stérilisation des bactéries Hfr par la streptomycine, ou même leur destruction, après la conjugaison par un bactériophage virulent (Hayes, 1955), n'empêchent pas la formation de recombinants génétiques.

La seconde est une *polarité génétique* : certains caractères des bactéries Hfr H peuvent seuls être transmis à haute fréquence à des recombinants génétiques. On est ainsi conduit à distinguer deux catégories de caractères génétiques : ceux pour lesquels s'observe une haute fréquence de recombinaison et ceux pour lesquels s'observe une basse fréquence de recombinaison (Hayes, 1953b).

La troisième enfin est la *polarité du segment TL-Gal*, c'est-à-dire la polarité qui existe le long du groupe de liaison sur lequel sont situés les caractères génétiques transmis à haute fréquence. Tout se passe, en effet, comme s'il existait, le long du segment TL-Gal, un gradient tel qu'un caractère génétique a d'autant moins de chance d'apparaître chez un recombinant qu'il est situé plus loin des caractères TL. Pour la facilité de l'exposé, nous appellerons donc *proximal* un caractère situé près de TL et *distal* un caractère, tel que Gal_b , situé loin de TL.

Polarité génétique et polarité du segment TL-Gal pourraient être la

conséquence de l'un ou de l'autre des mécanismes qui ont été analysés à la fin du chapitre précédent.

— Il pourrait, en effet, s'agir, selon l'hypothèse proposée par Lederberg et Cavalli, de polarités d'ordre purement génétique : la totalité du chromosome de la bactérie Hfr serait *transférée* à la bactérie F⁻, mais certains caractères seulement seraient *transmis* à des recombinants par suite d'un défaut d'appariement entre structures homologues et de l'élimination post-zygotique d'un segment chromosomique provenant du Hfr.

— Selon l'hypothèse de Hayes, au contraire, un segment seulement du chromosome de la bactérie Hfr serait transféré au cours de la conjugaison, ce qui expliquerait que la haute fréquence de recombinaison ne porte que sur un groupe de caractères. Quant à la polarité du segment TL-Gal, elle pourrait s'expliquer par le caractère incomplet du segment chromosomique transféré.

Nous nous efforcerons, dans la suite de cet exposé, d'analyser les arguments qui plaident en faveur de l'une ou de l'autre de ces hypothèses et de rechercher les solutions qui peuvent être apportées aux problèmes ainsi posés.

Il convient, dès maintenant, d'insister sur l'importance de la distinction qui doit être faite entre le *transfert* de caractères génétiques de bactéries donatrices à bactéries réceptrices et la *transmission* de ces mêmes caractères des bactéries Hfr à des recombinants génétiques. Cette distinction, qui est également nécessaire quelle que soit l'hypothèse considérée, apparaissait difficile à établir expérimentalement tant que l'on ne pouvait observer que la formation de recombinants génétiques. Ceux-ci représentent, en effet, les produits terminaux des nombreuses étapes qui se déroulent entre le moment où les bactéries de types sexuels opposés entrent en contact et celui où est constitué un clone de recombinants génétiques.

Les croisements mettant en œuvre des souches lysogènes, croisements que nous allons maintenant considérer, devaient permettre de donner un sens concret à cette distinction entre le transfert et la transmission de caractères génétiques.

LA LOCALISATION CHROMOSOMIQUE
DES PROPHAGES

L'analyse du déterminisme génétique de la lysogénie par les croisements à basse fréquence de recombinaison avait apporté de fortes présomptions en faveur de l'hypothèse selon laquelle le prophage λ serait situé sur le chromosome bactérien. Cependant, en raison même des difficultés auxquelles donnait lieu l'interprétation de tels croisements, cette démonstration n'était pas entièrement convaincante. Si, en effet, les caractères lysogénie λ et galactose se comportaient dans les croisements comme des facteurs génétiquement liés, leur position sur le groupe de liaison bactérien demeurerait incertaine. D'autre part, la ségrégation de ces caractères ne se produisait pas de la même manière dans les croisements réciproques entre bactéries lysogènes et bactéries non lysogènes (voir chapitre IV).

La possibilité de réaliser des croisements à haute fréquence de recombinaison permettait de reprendre cette étude avec plus de précision. Le caractère Gal_b , auquel les croisements $F^+ \times F^-$ montraient que le caractère lysogénie λ était lié, est en effet situé sur le groupe de liaison transmis à haute fréquence par les bactéries Hfr H. La haute fréquence de recombinaison, d'autre part, permettait d'analyser de manière quantitative les causes de l'asymétrie qui se manifestait dans les résultats des croisements entre bactéries lysogènes et bactéries non lysogènes.

Ces études, que nous nous proposons de rapporter dans ce chapitre, ont permis d'établir sans ambiguïté la localisation chromosomique des prophages. Elles ont montré aussi qu'un prophage tel que λ se comporte d'une manière différente des autres déterminants génétiques bactériens puisque sa ségrégation parmi des recombinants génétiques diffère selon qu'il est porté par les seules bactéries réceptrices ou par les seules bactéries donatrices.

I. — LE BACTÉRIOPHAGE TEMPÉRÉ λ

Ainsi que nous l'avons indiqué, la souche K12 d'*E. coli* et la plupart des mutants qui en dérivent sont lysogènes. Le bactériophage λ que ces bactéries produisent peut se multiplier sur certains dérivés non lyso-

gènes de la souche K12, ou sur d'autres souches d'*E. coli*, tel *E. coli* C (voir tableau III). Lorsque les souches mises en présence dans un croisement sont toutes deux lysogènes pour λ , le caractère lysogène de ces souches est sans influence sur le résultat du croisement. Ainsi, les deux souches Hfr isolées, l'une par Cavalli (Hfr C), l'autre par Hayes (Hfr H), sont toutes deux lysogènes et les travaux de ces auteurs, qui ont été exposés dans le chapitre précédent, ont été faits avec des souches lysogènes.

Avant d'aborder l'étude de la localisation du prophage λ par les croisements à haute fréquence de recombinaison, il convient de rappeler quelques propriétés des bactéries lysogènes K12(λ) et du phage λ qu'elles produisent, ainsi que les méthodes d'étude dont la connaissance peut être utile à la compréhension des expériences.

A. — *Souches lysogènes K12(λ) et souches lysogènes défectives K12(λ d).*

Dans une culture de bactéries K12(λ), on trouve environ une particule de phage libre pour cent bactéries. Sous l'action d'agents tels que la lumière ultraviolette, on peut induire la production de phage chez la presque totalité des bactéries d'une culture. Chaque bactérie induite libère en moyenne une centaine de particules infectieuses (Weiglé et Delbrück, 1951). Les bactéries lysogènes K12(λ) sont, en général, capables d'adsorber le phage λ , mais elles résistent à son action : elles sont immunes. Certaines souches — non lysogènes ou lysogènes — sont résistantes au phage λ parce qu'elles sont incapables de l'adsorber : c'est le cas de la souche P678, par exemple (tableau III).

A la suite de traitements divers, mais plus particulièrement parmi les bactéries ayant survécu à de fortes doses de rayonnement ultraviolet, des souches lysogènes défectives ont été isolées (Lederberg et Lederberg, 1953 ; Appleyard, 1954*b* ; Jacob et Wollman, 1956*a*). Ces souches, qui ne produisent plus de phage λ , ni spontanément, ni même après induction, conservent cependant l'immunité spécifique des bactéries K12(λ) et, le plus souvent, leur sensibilité à l'action de la lumière ultraviolette. Les bactéries défectives perpétuent un prophage λ muté, incapable d'accomplir l'une des réactions indispensables à la production de particules infectieuses de bactériophage λ .

B. — *Le système génétique du bactériophage λ .*

Le bactériophage λ de type sauvage, produit par les bactéries K12(λ), forme, par étalement sur des bactéries sensibles, de petites plages d'un trouble homogène dont le diamètre est d'environ 0,5 mm. A partir de

ce phage, on peut isoler une variété de mutants qui en diffèrent par la dimension des plages qu'ils forment, par l'aspect de ces plages, par leur pouvoir lysogénisant ou par leur spectre d'activité. Ceux de ces mutants qui forment des plages claires sont dépourvus de pouvoir lysogénisant. Tous conservent la spécificité antigénique du type λ sauvage et la plupart d'entre eux sont incapables de se développer sur des bactéries K12(λ) lysogènes pour l'un quelconque de ces mutants. Une certaine classe de mutants clairs, cependant, appelés virulents inducteurs, sont capables de surmonter l'immunité des bactéries lysogènes K12(λ) et de se développer dans celles-ci. L'aspect phénotypique d'un certain nombre de mutants du phage λ est illustré par la figure 9 (Jacob et Wollman, 1954b).

La génétique du bactériophage λ est assez bien connue, et, par des croisements appropriés (fig. 10), on est parvenu à disposer sur un groupe de liaison unique tous les caractères de ce phage jusqu'ici décrits (Jacob et Wollman, 1954b ; Wollman et Jacob, 1954b ; Kaiser, 1955). De même, en surinfectant par des phages λ génétiquement marqués des bactéries lysogènes déficientes, préalablement induites par la lumière ultraviolette, a-t-il été possible de localiser sur ce groupe de liaison une variété de mutations de prophage, responsables du caractère déficient (Jacob et Wollman, 1956a ; Jacob, Fuerst et Wollman, 1957).

C. — *Méthodes d'étude des croisements mettant en œuvre des souches lysogènes.*

Les techniques générales d'étude des bactériophages sont trop classiques pour qu'il soit nécessaire de les rappeler ici (Adams, 1950). De même, la description des techniques particulières à l'étude des bactéries lysogènes (Jacob, 1954) excéderait le cadre de ce travail. Nous nous bornerons à ce qui semble utile à l'intelligence de l'exposé.

1) *Dénombrement des centres infectieux.* — On appelle centre infectieux toute particule capable de donner naissance à une plage par étalement en présence de bactéries sensibles indicatrices. Ce peut être aussi bien une particule de phage libre qu'une bactérie sensible infectée ou une bactérie lysogène induite. Il est souvent nécessaire de pouvoir distinguer les centres infectieux qui sont dus à des phages libres de ceux qui sont dus à des bactéries. Ainsi, lorsque des échantillons d'une culture de bactéries lysogènes sont étalés sur une boîte de Petri en présence de bactéries sensibles, certaines des plages formées sont dues à des phages libres, alors que d'autres sont dues à des bactéries lysogènes qui ont libéré du phage au cours de leur croissance résiduelle sur la boîte.

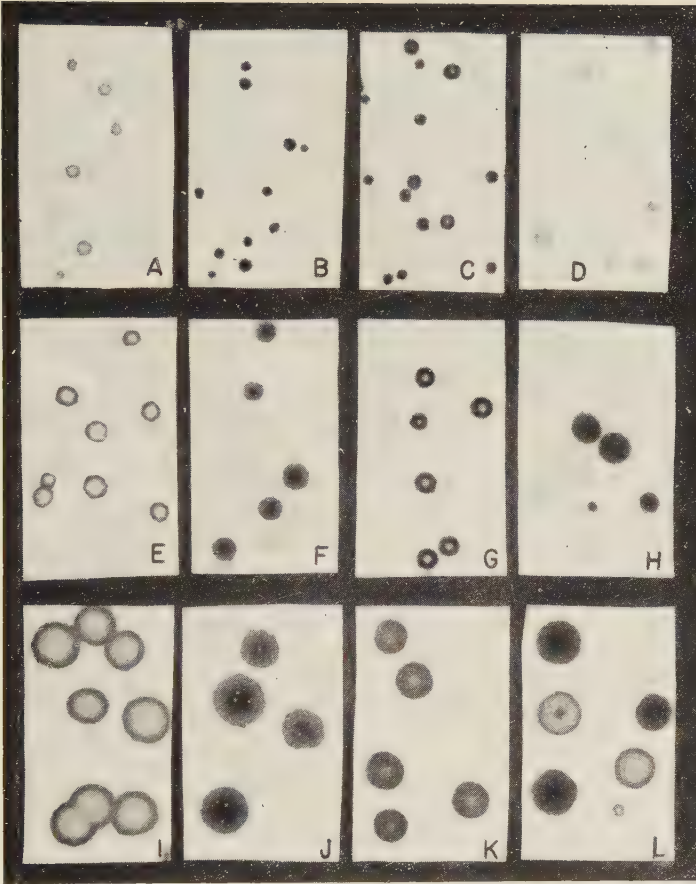


FIG. 9. — Aspect des plages formées par le bactériophage tempéré λ et par certains de ses mutants.

A : type sauvage; B : petit clair; C : petit centré; D : petit trouble uni-
forme; E : moyen trouble; F : moyen clair; G : moyen centré; H : phages
clairs et phages virulents inducteurs étalés sur un mélange de bactéries indi-
catrices : les plages claires sont dues aux phages virulents, les plages troubles
aux phages clairs; I : grand trouble; J : grand clair; K : grand centré;
L : plages formées dans un croisement type sauvage $\times$ grand virulent.

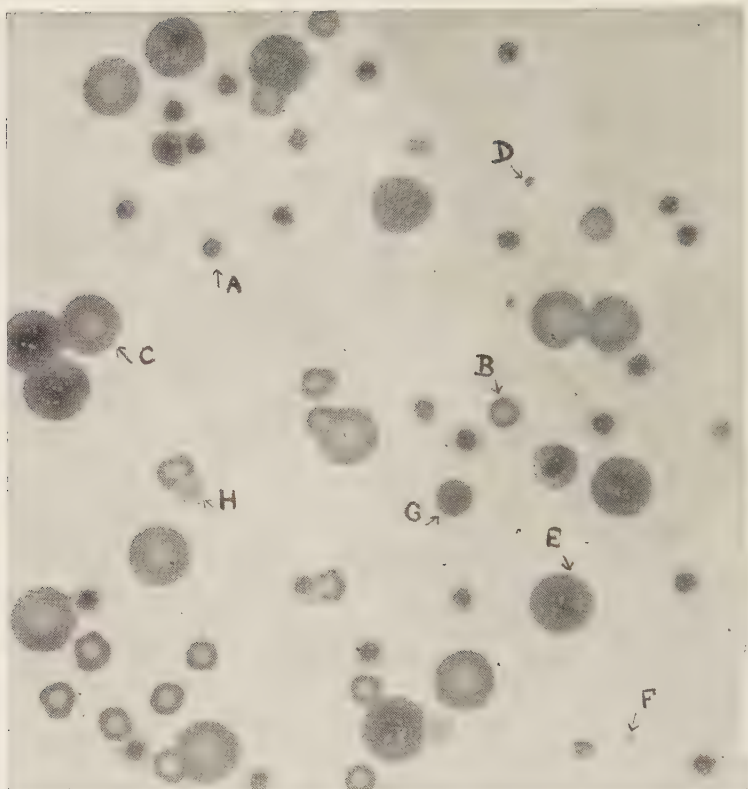


FIG. 10. — Aspect des plages formées par les produits d'un croisement entre bactériophages λ différant par trois caractères.

Types parentaux	$\left. \begin{array}{l} A : m_5^+emi \text{ (petit clair);} \\ B : m_5^+c^+mi^+ \text{ (moyen trouble).} \end{array} \right\}$
Recombinants simples	$\left. \begin{array}{l} C : m_5^+c^+mi^+ \text{ (grand trouble);} \\ D : m_5^+emi \text{ (clair minuscule);} \\ E : m_5^+emi^+ \text{ (grand clair);} \\ F : m_5^+c^+mi \text{ (trouble minuscule).} \end{array} \right\}$
Recombinants doubles	$\left. \begin{array}{l} G : m_5^+emi^+ \text{ (moyen clair);} \\ H : m_5^+c^+mi \text{ (petit trouble).} \end{array} \right\}$

Plusieurs méthodes permettent d'établir cette distinction. On peut, par exemple, éliminer les phages libres par centrifugation et lavage du culot bactérien, ou en les neutralisant par un antisérum spécifique. On peut éliminer les centres infectieux bactériens en traitant la suspension par le chloroforme, qui inactive les bactéries mais n'inactive pas les bactériophages. Plus simplement encore, on étale le mélange sur un milieu additionné de streptomycine (150 $\mu\text{g/ml}$) en présence de bactéries indicatrices streptomycino-résistantes : les centres infectieux bactériens sont inactivés et seuls les phages libres forment des plages (Bertani, 1951).

Il en va de même lorsque, dans un croisement, par exemple, on veut distinguer les centres infectieux, formés par l'une des souches, des centres infectieux formés par l'autre souche : l'on choisit l'une des souches streptomycino-sensible, l'autre souche streptomycino-résistante, et les étalements sont faits sur milieu gélosé additionné de streptomycine et de bactéries indicatrices streptomycino-résistantes. C'est la souche 112 S^r (tableau III) qui, dans nos expériences, a été utilisée comme souche indicatrice.

2) *Technique des croisements et analyse des recombinants.* —

Les techniques générales des croisements ne diffèrent pas de celles qui ont été décrites dans le chapitre précédent. Les cultures des souches à croiser sont centrifugées et lavées, de manière à éliminer les phages libres et, dans certains cas, il est même nécessaire de réaliser le croisement en présence d'immunsérum anti-phage.

Dans les croisements entre bactéries lysogènes et bactéries non lysogènes, ce que l'on recherche, c'est la ségrégation du caractère lysogène parmi les recombinants.

Les souches réceptrices, qu'elles soient lysogènes ou non lysogènes, doivent donc être résistantes au bactériophage étudié de manière à éviter que les recombinants non lysogènes ne soient infectés et lysés par des bactériophages extrinsèques. Les recombinants sont soigneusement réisolés, de préférence en présence de sérum anti-phage. On détermine leur caractère lysogène ou non lysogène par décalque sur des boîtes de Petri de milieu GN préalablement ensemencé de bactéries indicatrices : après séjour à l'étuve, les empreintes des recombinants lysogènes seront entourées d'une zone de lyse.

Dans les croisements entre bactéries lysogènes pour des mutants différents d'un même bactériophage, ce que l'on recherche, c'est la ségrégation des deux types de prophages parmi les recombinants.

Lorsqu'on ne dispose pas de moyens de déceler indépendamment chacun des types mutants, l'analyse quantitative présente de grandes difficultés et demeure, de ce fait, assez imprécise. C'est le cas des croisements entre souches produisant des phages qui diffèrent par des caractères morphologiques tels que l'aspect ou la dimension des plages qu'ils forment (fig. 9). Chaque recombinant doit être soigneusement réisolé, afin d'éviter des contaminations par des phages de l'autre type. Chaque recombinant doit être ensuite mis en culture et des échantillons de ces cultures étalés en présence de bactéries indicatrices afin de déterminer le type de phage produit.

Dans les croisements entre bactéries lysogènes qui perpétuent des prophages dont l'un des types au moins peut être identifié indépendamment de la présence de l'autre type, l'analyse des résultats est plus simple. C'est le cas de croisements entre bactéries lysogènes qui perpétuent certains types mutants d'un même phage (phages différant par leur spectre d'activité, ou prophage normal et prophage défectif). C'est aussi le cas de croisements entre bactéries lysogènes pour des phages différents.

On connaît un mutant de λ qui diffère du type sauvage par son spectre d'activité. Ce mutant (λh) est capable de former des phages sur des bactéries qui sont résistantes au type sauvage (Appleyard et coll., 1956). On peut également isoler, par recombinaison génétique entre un phage λ et un phage apparenté ayant un spectre d'activité différent, un hybride qui possède la spécificité de λ , mais le spectre d'activité de l'autre phage. C'est ainsi qu'a été obtenu, par croisement entre λ et le phage tempéré 434 (voir plus loin), un hybride λh_{434} (Kaiser et Jacob, 1958).

Dans les croisements entre bactéries lysogènes pour des phages qui diffèrent par leur spectre d'activité, on peut identifier indépendamment, soit les recombinants qui produisent l'un des types phagiques (croisement $K_{12}(\lambda h^+) \times K_{12}(\lambda h)$, par exemple), soit les recombinants qui produisent l'un des types de phage et aussi les recombinants qui produisent l'autre type [croisement $K_{12}(\lambda h^+) \times K_{12}(\lambda h_{434})$, par exemple]. Dans les croisements entre bactéries lysogènes normales [$K_{12}(\lambda^+)$] et bactéries lysogènes défectives [$K_{12}(\lambda d)$], on ne peut déceler que les recombinants qui produisent le type phagique normal.

Dans ces différents cas, les recombinants obtenus sont réisolés et analysés suivant les méthodes déjà décrites. L'identification de leur caractère lysogène se fait par décalque sur les bactéries indicatrices convenables : bactéries résistantes à λ pour identifier λh dans un croisement $K_{12}(\lambda h^+) \times K_{12}(\lambda h)$, bactéries résistantes à λ et bactéries résistantes à 434 dans un croisement $K_{12}(\lambda h^+) \times K_{12}(\lambda h_{434})$, par exemple, bactéries sensibles à λ dans un croisement $K_{12}(\lambda^+) \times K_{12}(\lambda d)$.

II. — LA LOCALISATION DU PROPHAGE λ

A. — Les croisements $Hfr H(\lambda)^- \times F^-(\lambda)^+$ et le déterminisme chromosomique de la lysogénie.

Les résultats obtenus dans des croisements entre bactéries $Hfr H$ non lysogènes et bactéries F^- lysogènes et résistantes au bactériophage λ sont rapportés dans les tableaux VI et VII.

1) *Les fréquences de recombinaison* observées sont, ainsi qu'il a été indiqué, les mêmes dans un croisement $Hfr H(\lambda)^- \times F^-(\lambda)^+$ et dans le croisement $Hfr H(\lambda)^- \times F^-(\lambda)^-$ correspondant (tableau VI, croisements 1 à 5). En particulier, le rapport du nombre des recombinants $T^+L^+S^r$, au nombre des recombinants Gal^+S^r formés dans le même croisement (rapport $T^+L^+S^r/Gal^+S^r$), est voisin de 4 dans les deux cas, que la souche F^- soit lysogène ou non.

2) **La constitution génétique des recombinants** est également la même dans un croisement $\text{Hfr}(\lambda)^- \times \text{F}^-(\lambda)^+$ que dans le croisement correspondant $\text{Hfr}(\lambda)^- \times \text{F}^-(\lambda)^-$, en ce qui concerne les différents caractères (Az T_1 Lac Gal) portés par le segment TL-Gal (tableau VII, croisements 1 et 2).

TABLEAU VII

*Constitution génétique des recombinants
formés dans divers croisements entre bactéries Hfr H S^r et F $^-$ P678 S^r .*

Croisements	Rapport $\frac{\text{T}^+\text{L}^+\text{S}^r}{\text{Gal}^+\text{S}^r}$	Constitution génétique des recombinants									
		T $^+$ L $^+$ S r					Gal $^+$ S r				
		Az s	T 1^s	Lac $^+$	Gal $^+$	(λ)	T+L $^+$	Az s	T 1^s	Lac $^+$	(λ)
Hfr(λ) $^-$ $\times$ P678(λ) $^-$	4,2	91	72	48	27	—	83	78	79	81	—
Hfr(λ) $^-$ $\times$ P678(λ) $^+$	3,7	92	73	49	31	15	75	75	74	74	84
Hfr(λ) $^+$ $\times$ P678(λ) $^+$	4,2	90	70	47	29	14	80	78	78	82	82
Hfr(λ) $^+$ $\times$ P678(λ) $^-$	54	86	60	21	2,5	0,1	82	79	78	74	1

Le croisement $\text{Hfr}(\lambda)^+ \times \text{P678}(\lambda)^+$ est un croisement entre bactéries qui perpétuent des prophages λ génétiquement différents (voir texte).

Quant au caractère « lysogénie λ », on voit qu'il ségrège dans le croisement puisque 15 % environ des recombinants T $^+$ L $^+$ S r héritent du caractère non lysogène du type parental Hfr. La fréquence avec laquelle apparaît le caractère non lysogène du parent Hfr parmi les recombinants T $^+$ L $^+$ S r indique que la lysogénie est sous la dépendance d'un déterminant chromosomique et que ce déterminant est situé au-delà de Gal $_b$ par rapport à TL, sur le segment TL-Gal (fig. 7).

L'analyse des recombinants Gal $^+$ S r confirme la localisation chromosomique du déterminant génétique de la lysogénie.

Elle indique, d'autre part, l'étroite liaison de ce déterminant au déterminant du caractère Gal $_b$, puisque plus de 80 % des recombinants Gal $^+$ S r ont également hérité du caractère non lysogène des bactéries donatrices.

Les croisements entre bactéries Hfr H non lysogènes et bactéries F $^-$ lysogènes permettent donc d'établir sans ambiguïté que la lysogénie est à déterminisme chromosomique et que, dans le cas du bactériophage λ , le déterminant de la lysogénie est situé sur le groupe de caractères trans-

mis à haute fréquence par les bactéries Hfr H. Ce déterminant est étroitement lié au caractère Gal_b et situé au-delà de Gal_b sur la partie distale du segment TL-Gal (Wollman et Jacob, 1954a, 1957).

**B. — Les croisements Hfr H(λ)⁺ × F⁻(λ)⁺
et la localisation chromosomique du prophage λ .**

Si les croisements qui viennent d'être décrits permettent de conclure à un déterminisme chromosomique de la lysogénie, ils n'indiquent pas que le déterminant génétique de ce caractère soit le prophage lui-même. Cette démonstration ne peut être apportée que par des croisements mettant en œuvre des bactéries lysogènes pour le même bactériophage λ , mais dans lesquels il soit possible de distinguer le type de prophage perpétué par chacun des types parentaux. En d'autres termes, cette démonstration ne peut être apportée que par des croisements entre bactéries qui perpétuent des prophages λ génétiquement distincts.

Les caractères des croisements entre bactéries Hfr H lysogènes et bactéries F⁻ également lysogènes sont en tous points comparables à ceux des croisements déjà décrits. Nous rappellerons seulement qu'avec la souche Hfr H(λ)⁺ que nous avons utilisée, les fréquences de recombinaison que l'on observe sont deux fois plus élevées que dans les croisements correspondants mettant en œuvre la souche non lysogène Hfr H(λ)⁻ (croisements 6, 8 et 9 du tableau VI). Il est possible que le traitement par la lumière ultraviolette qui a servi à obtenir la « guérison » de la souche Hfr H lysogène soit également responsable de cette baisse de « fertilité ».

Quant à la constitution génétique des recombinants formés dans les croisements Hfr H(λ)⁺ × F⁻(λ)⁺, elle est, pour les caractères autres que la lysogénie, identique à celle des recombinants formés dans un croisement Hfr H(λ)⁻ × F⁻(λ)⁻ (croisements 1 et 3, tableau VII).

1) *Croisements entre bactéries lysogènes pour des mutants morphologiques du bactériophage λ .* — Les premiers croisements à haute fréquence de recombinaison entre bactéries lysogènes perpétuant des prophages différents ont été réalisés entre des bactéries Hfr H, lysogènes pour le phage λ de type sauvage, et bactéries F⁻ C600, lysogènes pour un mutant dont les plages sont de dimensions moyennes au lieu d'être petites, et dont l'aspect est centré au lieu d'être uniformément trouble (voir fig. 9 A et G). Cent cinquante recombinants T⁺L⁺S^r furent isolés et analysés : 30 % d'entre eux produisaient du λ de type sauvage comme le type parental Hfr (Wollman et Jacob, 1954a). Le tiers environ de ces recombinants produisaient aussi le type moyen centré et

quelques-uns d'entre eux des types recombinants entre les deux types de phages.

Les difficultés de l'analyse de tels croisements et son imprécision ont été indiquées. Ces résultats démontraient, cependant, que le déterminant génétique de la lysogénie transmis à haute fréquence des bactéries Hfr H aux recombinants $T^+L^+S^r$ est le prophage lui-même.

2) **Croisements entre bactéries lysogènes pour des phages qui diffèrent par leur spectre d'activité.** — L'analyse des résultats est rendue beaucoup plus aisée lorsque les bactéries mises en jeu dans le croisement perpétuent des prophages dont l'un au moins peut être identifié indépendamment de la présence de l'autre. C'est le cas d'un croisement entre bactéries Hfr H(λh^+), qui produisent un phage λ de type sauvage, et bactéries P678(λh_{434}) qui produisent un λ hybride, actif sur des bactéries résistantes au phage λ de type sauvage. Les résultats d'un tel croisement sont rapportés sur le tableau VII où l'on voit que 14 % des recombinants $T^+L^+S^r$ et 82 % des recombinants Gal^+S^r ne produisent plus le type de phage perpétué par les bactéries réceptrices, mais produisent du λh^+ de type sauvage.

On obtient des résultats comparables dans des croisements entre bactéries Hfr H(λd) lysogènes défectives et des bactéries P678(λ^+) perpétuant un prophage normal de type sauvage : le caractère défectif des bactéries Hfr est hérité par les recombinants $T^+L^+S^r$ et Gal^+S^r avec la même fréquence que l'était, dans le croisement précédent, le prophage de type sauvage.

Il convient de noter que, dans les croisements entre bactéries lysogènes qui perpétuent des prophages génétiquement marqués, une faible proportion des recombinants (environ 10 % du nombre de ceux qui ont acquis le prophage du type parental Hfr) perpétuent des marqueurs génétiques de l'un et de l'autre type de prophages (Jacob et Wollman, 1957a).

Les résultats de ces croisements démontrent sans conteste possible que le déterminant génétique de la lysogénie est bien le prophage lui-même. En effet, un prophage λ porté par les bactéries Hfr H — que ce prophage soit du type sauvage, d'un type mutant ou défectif — est transmis aux recombinants génétiques d'un croisement $Hfr\ H(\lambda)^+ \times F^-(\lambda)^+$ exactement de la même manière que le caractère non lysogène était transmis à ces mêmes recombinants dans un croisement $Hfr\ H(\lambda)^- \times F^-(\lambda)^+$. Il existe donc, sur le chromosome bactérien, une position déterminée et unique où un prophage λ , quel que soit son génotype, puisse être situé. Ce locus spécifique du prophage λ se trouve au-delà de Gal_b sur la partie distale du segment chromosomique TL-Gal (fig. 7). La liaison entre le prophage λ et le caractère Gal_b est confirmée par les

résultats d'expériences de transduction (Jacob, 1955). Lorsqu'en effet des bactéries Gal_b^- (lysogènes ou non lysogènes pour λ) sont traitées par un phage transducteur qui s'est développé dans des bactéries de caractères opposés : Gal_b^+ (non lysogènes ou lysogènes pour λ), une fraction des bactéries transduites Gal_b^+ ont également acquis le caractère lysogène ou non lysogène des bactéries donatrices.

**C. — Les croisements $\text{Hfr H}(\lambda)^+ \times \text{F}^-(\lambda)^-$
et les déformations génétiques qui s'y observent.**

Si, dans les croisements $\text{Hfr H}(\lambda)^- \times \text{F}^-(\lambda)^+$ et $\text{Hfr H}(\lambda)^+ \times \text{F}^-(\lambda)^+$, le prophage λ semble se comporter de la même manière que les autres déterminants génétiques bactériens, il n'en est plus de même dans les croisements entre bactéries Hfr H lysogènes et bactéries F^- non lysogènes, comme on peut le voir sur le tableau VI (croisements 7 et 10) et sur le tableau VII (croisement 4) : non seulement les fréquences de recombinaison sont modifiées par rapport aux résultats obtenus dans les croisements témoins, mais surtout la constitution génétique des recombinants $\text{T}^+\text{L}^+\text{S}^+$ est profondément altérée (Wollman et Jacob, 1954a). Ces altérations, comme on le verra dans le chapitre suivant, sont la conséquence de l'induction du développement du prophage λ au cours de la conjugaison.

L'asymétrie, qui se manifestait dans les résultats des croisements réciproques à basse fréquence de recombinaison entre bactéries lysogènes et bactéries non lysogènes, apparaît plus nettement encore dans les résultats des croisements entre bactéries Hfr H et bactéries F^- . Lorsque le prophage λ est porté par les bactéries réceptrices F^- , le caractère lysogène ségrège dans les croisements et peut sans difficulté être localisé sur le groupe de liaison des caractères génétiques transmis à haute fréquence par les bactéries Hfr H . Au contraire, lorsque le prophage λ est porté par les bactéries Hfr H , il n'est pas transmis aux recombinants formés dans un croisement avec des bactéries réceptrices non lysogènes. Il se comporte, dans ce cas, comme un facteur létal et son transfert aux bactéries réceptrices altère profondément les résultats des croisements.

III. — LA LOCALISATION DE QUELQUES PROPHAGES

Les bactéries lysogènes sont résistantes à l'action du bactériophage qu'elles sont capables de produire (immunité). Elles demeurent cependant sensibles à l'action d'autres bactériophages tempérés. De même,

si l'on ne peut en général lysogéniser ces bactéries par des mutants du phage qu'elles produisent (incompatibilité), les bactéries lysogènes peuvent néanmoins être lysogénisées par d'autres bactériophages tempérés, de la même manière que les bactéries sensibles homologues. Ainsi, la présence d'un prophage modifie spécifiquement les réactions de la bactérie vis-à-vis du phage homologue. Il semble vraisemblable qu'il existe une relation entre cette spécificité et le fait qu'un prophage donné, tel que λ , occupe une position définie sur le chromosome bactérien. Il était, par conséquent, d'un intérêt évident d'étendre les recherches à des prophages autres que λ . Une série de bactériophages tempérés, actifs sur *E. coli* K12, ont donc été isolés et certains d'entre eux ont été choisis pour cette étude.

A. — *Propriétés*

de quelques bactériophages tempérés actifs sur E. coli K12.

A partir de 500 souches d'*E. coli* provenant de fèces humaines, il a été possible d'isoler 54 phages tempérés actifs sur *E. coli* K12 (λ)⁻ ou sur *E. coli* C : parmi eux, 27 étaient actifs à la fois sur K12 et sur C, 5 n'étaient actifs que sur K12 et 22 n'étaient actifs que sur C. Parmi les phages actifs sur *E. coli* K12, un certain nombre ont été utilisés pour préparer des clones lysogènes à partir de souches Hfr(λ)⁻ et F(λ)⁻ (Jacob et Wollman, 1956b).

Certains de ces phages sont inductibles par la lumière ultraviolette, d'autres ne le sont pas. Parmi les phages inductibles, il en a été trouvé trois qui ne se distinguent de λ par aucun des caractères étudiés : immunité croisée, spectre d'activité, sensibilité à un immunosérum anti- λ . Un certain nombre de phages, tant inductibles que non inductibles, ont été choisis parmi ceux qui ne donnent pas d'immunité croisée. Quelques propriétés de ces phages tempérés sont rapportées sur le tableau VIII. On voit, en particulier, que les spectres d'activité des phages inductibles et des phages non inductibles sont, pour les souches indicatrices choisies, nettement distincts (colonnes 1 à 3). Les différents phages inductibles étudiés présentent une certaine parenté avec λ tant en ce qui concerne leur sensibilité à un immunosérum anti- λ (colonne 5) que leur capacité à échanger des caractères génétiques avec λ (colonne 6). Leur taux d'induction par la lumière ultraviolette (colonne 4) varie dans d'assez grandes limites. Il est difficile d'évaluer la signification de telles différences en raison des nombreux facteurs en jeu. En particulier, chacun de ces phages possède un pouvoir de lysogénisation qui lui est propre et que modifient dans des sens différents certains changements apportés aux conditions extérieures.

TABLEAU VIII

*Propriétés de quelques bactériophages tempérés
actifs sur E. coli K12.*

Phages	Plages sur			Taux d'induction U.-V. pour 100 bactéries irradiées 4	Sensibilité à un sérum anti-λ 5	Recom- binaison avec λ 6
	K12/λ	K12/82	K12/62			
	1	2	3			
82	+	o	+	45	+	+
λ	o	+	+	> 95	+	—
434	+	o	+	> 95	+	+
381	+	o	+	45	(*)	(*)
21	o	+	+	> 95	(*)	+
424	+	o	+	25	+	+
466	+	o	+	25	(*)	(*)
18	+	+	o	< 1	o	—
370	+	+	o	< 1	o	(*)
62	+	+	o	< 1	(*)	(*)
363	+	+	o	< 1	o	—
W	+	+	o	< 1	(*)	(*)
299	+	+	o	< 1	(*)	—
186	+	+	o	(*)	o	—

(*) N'a pas été recherché.

Ces 14 phages tempérés ont été choisis parce que les bactéries lysogènes pour l'un d'entre eux ne sont pas immunes à l'action des autres. Ils sont rangés en deux classes : ceux qui sont inductibles par la lumière U.-V. et ceux qui ne le sont pas.

**B. — Localisation des prophages : les croisements
entre bactéries Hfr H non lysogènes et bactéries F⁻ lysogènes.**

Afin de déterminer si les différents prophages étudiés sont ou ne sont pas situés sur le groupe de liaison susceptible d'être transmis à haute fréquence par les bactéries Hfr H, une série de souches P678, chacune lysogène pour l'un des phages considérés, ont été préparées. Chacune de ces souches a été croisée, dans des conditions identiques, avec la même souche Hfr H non lysogène. Dans de tels croisements, nous l'avons vu, l'analyse génétique des recombinants T⁺L⁺S⁺ permet de

situer les caractères portés par le segment — TL-Gal — des bactéries Hfr H. Les résultats de ces différents croisements sont présentés sur le tableau IX.

TABLEAU IX

Localisation de divers prophages par des croisements entre bactéries Hfr H non lysogènes et F⁻ P678 lysogènes.

Prophages inducibles			Prophages non inducibles		
Prophage	Fréquence (en %) du caractère (ly) ⁻ parmi les recombinants		Prophage	Fréquence (en %) du caractère (ly) ⁻ parmi les recombinants	
	T+L+S ^r	Gal+S ^r		T+L+S ^r	Gal+S ^r
82	21	89	18	< 1	< 1
λ	16	82	370	< 1	< 1
434	11	68	62	< 1	< 1
381	2,5	15	363	< 1	< 1
21	1	10	W	< 1	< 1
424	< 1	3	299	< 1	< 1
466	< 1	1	186	< 1	< 1

Pour chacun de ces croisements, 200 recombinants de chaque type (T+L+S^r et Gal+S^r) ont été analysés. Les chiffres indiqués représentent la fréquence (en pour cent) avec laquelle se retrouve le caractère non lysogène du type parental Hfr H parmi les recombinants analysés.

Lorsque les bactéries réceptrices sont lysogènes pour certains des *prophages inducibles*, tels 82 et 434, le caractère non lysogène (ly)⁻ du type parental Hfr est hérité par une fraction non négligeable des recombinants T+L+S^r, ce qui permet de localiser ces prophages sur le segment — TL-Gal — et, comme λ, au-delà de Gal_b (fig. 11). D'autres prophages inducibles semblent être également situés sur ce segment, mais la fréquence de transmission du caractère (ly)⁻ du parent Hfr H aux 200 recombinants T+L+S^r analysés dans chaque croisement est trop faible pour permettre de localiser ces prophages avec précision. Dans les croisements mettant en œuvre des bactéries F⁻ lysogènes pour des *prophages non inducibles*, au contraire, le caractère (ly)⁻ du type parental Hfr H n'est jamais transmis aux recombinants T+L+S^r.

L'analyse des recombinants Gal+S^r confirme ces résultats (tableau IX). On voit que certains prophages inducibles sont étroitement liés au caractère Gal_b, alors que d'autres le sont beaucoup moins. On peut ainsi

dresser une carte de la partie distale du segment — TL-Gal — en plaçant sur ce segment, et au-delà de Gal_b par rapport à TL, les différents prophages inducibles dans l'ordre de leur liaison apparente au caractère Gal_b (fig. 11).

Quant aux prophages non inducibles, le déterminant (ly)⁻ correspondant n'est jamais transmis à haute fréquence aux recombinants Gal⁺S^r.

Il ressort de cette étude que *différents prophages occupent, sur le chromosome bactérien, des positions différentes*. Les divers prophages *non inducibles* étudiés sont vraisemblablement situés sur la partie du chromosome des bactéries Hfr H qui porte les caractères dont la transmission à des recombinants ne se produit jamais à haute fréquence. Les *prophages inducibles* étudiés semblent tous être situés sur la partie distale du segment TL-Gal et au-delà du caractère Gal_b. A chaque prophage correspond un locus spécifique, comme le démontrent des expériences où un Hfr H non lysogène est croisé à un F⁻ doublement lyso-

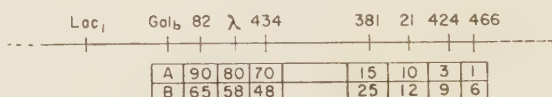


FIG. 11. — La localisation chromosomique de divers prophages inducibles.

- A) La fréquence (en pour cent) de recombinants Gal_b⁺(ly)⁻S^r parmi les recombinants Gal_b⁺S^r formés dans divers croisements entre bactéries Hfr H S^s non lysogènes et bactéries F⁻ P678 S^r lysogènes.
 B) Les taux d'induction zygotique observés dans divers croisements entre bactéries Hfr H S^s lysogènes et bactéries F⁻ P678 S^r non lysogènes.

gène pour les phages λ et 434, par exemple. Dans de tels croisements, le caractère (ly)⁻ correspondant à chacun des prophages est transmis aux recombinants T⁺L⁺S^r et Gal⁺S^r avec sa fréquence particulière (Jacob et Wollman, 1957a, 1958a).

Ces résultats sont confirmés par des expériences de transduction (Jacob, 1955). Une même particule de phage transducteur peut, en effet, transmettre simultanément le caractère Gal_b⁺ et les déterminants (82)⁻, (λ)⁻ et (434)⁻, ou même le caractère Gal_b⁺ et les trois prophages (82)⁺, (λ)⁺ et (434)⁺, à des bactéries réceptrices possédant les caractères inverses. Parmi les bactéries Gal_b⁺ obtenues par transduction de bactéries Gal_b⁻, les déterminants génétiques qui correspondent à chacun des prophages apparaissent avec des fréquences d'autant plus élevées que ces déterminants sont situés plus près du caractère Gal_b. Les résultats des expériences de transduction, comme ceux que fournissent les croisements, permettent donc d'établir l'ordre et les distances relatives des sites spécifiques des trois prophages inducibles 82, λ et 434 par rapport au caractère Gal_b. Quant aux autres prophages inducibles, leur degré

de liaison à ce locus n'est pas assez étroit pour permettre de les localiser avec précision. Pour que ce fût possible, il faudrait disposer de caractères nutritionnels pouvant être utilisés pour la sélection de recombinants génétiques et dont le déterminant serait situé sur le segment — TL-Gal —, au-delà de Gal_b. C'est le cas de déterminants qui gouvernent la biosynthèse du tryptophane (Tr) d'une part, de l'histidine (H) d'autre part. Des recherches en cours devraient donc permettre, par la sélection de recombinants Tr⁺S^r d'une part, de recombinants H⁺S^r d'autre part, de déterminer la position exacte de ces différents prophages. Leur position approximative est représentée sur la figure 11.

*
..

L'ensemble des résultats rapportés dans ce chapitre démontre que la lysogénie, propriété héréditaire de certaines bactéries, est déterminée par un facteur chromosomique et que ce facteur n'est autre que le prophage lui-même. Cette conclusion, lorsqu'elle fut d'abord entrevue, ne laissait pas d'être quelque peu surprenante, car la structure non infectieuse qui, chez les bactéries lysogènes, perpétue l'information génétique d'un virus, le bactériophage, semblait, de prime abord, devoir être cytoplasmique plutôt que chromosomique. Quoique jusqu'en 1950, c'est-à-dire jusqu'aux travaux de Lwoff, le problème n'ait jamais été vraiment discuté, l'hypothèse d'un déterminisme cytoplasmique de la lysogénie était implicitement admise (voir Lederberg et coll., 1951).

Le caractère lysogène pouvant être acquis par infection, il faut admettre que le matériel génétique du bactériophage infectant, c'est-à-dire l'acide désoxyribonucléique de ce phage (ou une réplique de cet A.D.N.) vienne se fixer sur le chromosome de la bactérie et soit dès lors répliqué en même temps que le matériel génétique de la bactérie elle-même. Quant à la nature de la liaison qui s'établit entre le prophage et le chromosome bactérien, il semble qu'il s'agisse plutôt d'une addition du génôme phagique que d'une substitution à une partie homologue du chromosome bactérien ou d'une insertion dans la continuité de ce chromosome (Jacob et Wollman, 1957a). Contrairement aux autres caractères génétiques bactériens, les symboles (ly)⁺ et (ly)⁻ ne représentent donc pas deux états alternatifs d'un même locus, mais la présence, ou l'absence, à un locus chromosomique spécifique, d'une structure génétique ajoutée.

Comme à chaque bactériophage tempéré correspond, sur le chromosome de la bactérie-hôte, un locus spécifique sur lequel peut se fixer son matériel génétique, l'établissement du caractère lysogène est sous la dépendance de deux facteurs, le matériel génétique du phage et le site

bactérien complémentaire. On sait que des mutations phagiques peuvent modifier ou même supprimer le pouvoir lysogénisant d'un bactériophage donné. L'analyse génétique du pouvoir lysogénisant du bactériophage λ , en particulier, illustre la complexité des réactions qui aboutissent à l'établissement de la lysogénie (Kaiser, 1957). On peut supposer, également, que des mutations bactériennes pourraient affecter le site spécifique nécessaire à la lysogénisation par un bactériophage donné. De telles mutations n'ont pas encore été décrites. On ne sait pas, d'ailleurs, si des bactéries qui seraient ainsi devenues non lysogénisables conserveraient la propriété de synthétiser les récepteurs spécifiques de l'adsorption du bactériophage correspondant ni si, au cas où elles auraient conservé cette propriété, elles seraient encore capables de reproduire le bactériophage infectant. S'il en était ainsi, ce bactériophage se comporterait comme un phage tempéré vis-à-vis de la souche bactérienne originale et comme un bactériophage virulent vis-à-vis de la souche mutée.

Si le pouvoir lysogénisant des bactériophages tempérés apparaît ainsi comme étant sous la dépendance à la fois de déterminants génétiques phagiques et de déterminants génétiques bactériens, il pourrait en être de même du caractère inductible ou non inductible d'un prophage donné. En effet, d'après les quelques exemples étudiés jusqu'ici, il semblerait que les loci spécifiques des prophages inductibles d'une part, des prophages non inductibles d'autre part, soient situés sur des régions différentes du chromosome bactérien.

CHAPITRE VII

L'INDUCTION ZYGOTIQUE ET SES EFFETS GÉNÉTIQUES

Dans les croisements réciproques entre bactéries non lysogènes et bactéries lysogènes pour un bactériophage tel que λ , les résultats obtenus diffèrent considérablement selon que le prophage est porté par les bactéries donatrices ou par les bactéries réceptrices. Lorsque ce sont les bactéries réceptrices qui sont lysogènes, on observe la ségrégation du caractère lysogène parmi les recombinants obtenus et ce caractère peut être localisé avec précision sur le chromosome bactérien. Au contraire, lorsque ce sont les bactéries Hfr H donatrices qui sont lysogènes, les résultats du croisement sont profondément modifiés et le caractère lysogène n'est pas transmis aux recombinants formés. Dans ce cas, en effet, le prophage λ est induit à la faveur de la conjugaison et son développement dans les bactéries réceptrices aboutit à la destruction de celles-ci. Ce phénomène a reçu le nom d'induction par conjugaison ou induction zytotique (Jacob et Wollman, 1954a, 1956b).

I. — L'INDUCTION ZYGOTIQUE DU PROPHAGE λ

A. — *Démonstration de l'induction zytotique.*

C'est dans les croisements entre bactéries Hfr H lysogènes et bactéries F⁻ non lysogènes qu'a pu être démontrée l'induction zytotique du prophage λ (1).

Des cultures de bactéries Hfr H(λ)⁺S^s, soigneusement lavées, et de bactéries P678(λ)⁻S^r λ ^r sont mélangées dans les conditions habituelles

(1) On trouvera, dans le chapitre précédent (section méthodes d'études), l'explication des termes et des techniques propres à l'étude du bactériophage.

d'un croisement (2.10^7 Hfr et 4.10^8 F^- par millilitre). Le mélange est agité au bain-marie à 37° et des échantillons, prélevés à temps variables, sont dilués et étalés en présence de bactéries indicatrices 112 S^r sur milieu GN additionné ou non de streptomycine ($150 \mu\text{g/ml}$). Un tube témoin, ne contenant que des bactéries Hfr $H(\lambda)^+S^s$, est traité de la même manière. Les résultats de cette expérience sont rapportés sur le tableau X.

Sur les boîtes additionnées de streptomycine (Sm), le nombre de plages formées par les échantillons qui proviennent du mélange Hfr $H(\lambda)^+S^s \times F^-(\lambda)^-S^r\lambda^r$ (nombre qui, au temps 0, correspond à environ 1/1 000 du nombre de bactéries Hfr) augmente régulièrement en fonction du temps jusqu'à atteindre, après une heure, environ 50 % du nombre initial de Hfr. Au contraire, le nombre de plages formées par les échantillons qui proviennent du tube témoin ne représente, après 60 minutes, qu'environ 1 % du nombre de Hfr initiaux. Encore s'agit-il de plages petites et inégales, comme en forment les phages libres. Les plages formées par les échantillons du croisement, plus grandes et plus régulières, sont caractéristiques des centres infectieux bactériens.

Sur les boîtes sans streptomycine, les résultats sont essentiellement les mêmes, à ceci près que, dès le temps 0, il y a sur les boîtes un fond de plages petites et de dimensions inégales, qui sont dues à la croissance résiduelle des bactéries Hfr. Pour les échantillons du témoin, le nombre de ces plages augmente en fonction du temps pour atteindre à 60 minutes environ 10 % du nombre initial de bactéries Hfr. Pour les échantillons du mélange, au contraire, ces plages sont progressivement remplacées par des plages régulières et bien formées qui, à 60 minutes, atteignent encore 50 % environ du nombre de bactéries Hfr initiales.

Ainsi, lorsqu'on mélange des bactéries Hfr $H(\lambda)^+$ et des bactéries $F^-(\lambda)^-$, le développement du prophage de la moitié environ des bactéries Hfr $H(\lambda)^+$ est induit et ce développement, selon toute apparence, a lieu dans les bactéries réceptrices non lysogènes. C'est ce que confirme l'expérience suivante.

On réalise, d'une part, un mélange Hfr $H(\lambda)^+S^s \times F^-(\lambda)^-S^r\lambda^r$ et, d'autre part, un mélange Hfr $H(\lambda)^+S^r \times F^-(\lambda)^-S^s\lambda^r$, les étalements sur bactéries indicatrices 112 S^r étant réalisés en présence ou en l'absence de streptomycine (tableau X). Sur les boîtes dépourvues de streptomycine, les résultats sont les mêmes dans les deux croisements : le nombre de centres infectieux atteint, au bout d'une heure environ, la moitié du nombre initial des bactéries Hfr. Sur les boîtes contenant de la streptomycine, au contraire, seuls apparaissent les centres infectieux formés au cours du croisement Hfr $(\lambda)^+S^s \times F^-(\lambda)^-S^r$. Les plages formées à partir

des échantillons qui proviennent du croisement $Hfr(\lambda)^+S^r \times F^-(\lambda)^-S^s$ ne diffèrent ni par leur aspect, ni en nombre, des plages formées par une culture témoin de bactéries $Hfr(\lambda)^-(1)$.

TABLEAU X

*Induction zygotique dans les croisements
entre bactéries Hfr H lysogènes et F^- non lysogènes.*

Étalement à $t =$ (minutes)	Nombre de plages de phage λ pour 100 Hfr initiaux						
	Témoin $Hfr(\lambda)^+S^s$		Croisement $Hfr(\lambda)^+S^s \times F^-(\lambda)^-S^r\lambda^r$		Témoin $Hfr(\lambda)^+S^r$ avec ou sans Sm	Croisement $Hfr(\lambda)^+S^r \times F^-(\lambda)^-S^s\lambda^r$	
	sans Sm	avec Sm	sans Sm	avec Sm		sans Sm	avec Sm
0	1,8	0,17	2	0,09	2,7	3	2,9
20	3,2	0,51	18	17,5	4,6	19	4,9
40	5,7	0,68	42	37	5,3	47	6,3
60	7,8	1,08	55	52	7,1	58	7,8

Les deux croisements sont réalisés dans les conditions habituelles (voir texte). A des temps variables, des échantillons sont prélevés, dilués et étalés en présence de bactéries indicatrices 112 S^r sur gélose additionnée ou non de streptomycine. Des tubes témoins ne contenant que des bactéries Hfr sont traités de la même façon que les tubes expérimentaux.

Cette expérience démontre donc que le développement du prophage des bactéries $Hfr H(\lambda)^+$ se fait, non pas dans les bactéries Hfr, mais dans les bactéries réceptrices $F^-(\lambda)^-\lambda^r$. L'inactivation de celles-ci par la streptomycine supprime les centres infectieux, tandis que l'inactivation des bactéries $Hfr(\lambda)^+S^s$ demeure sans effet.

Dans un croisement $Hfr(\lambda)^+S^s \times F^-(\lambda)^-S^r\lambda^r$, on peut suivre, en fonction du temps, l'évolution du nombre des centres infectieux produits par les bactéries $F^-(\lambda)^-S^r\lambda^r$. Les résultats d'une telle expérience sont rapportés sur la figure 12.

On voit que le nombre des centres infectieux s'accroît jusqu'à la

(1) Les bactéries $Hfr H(\lambda)^+$, lorsqu'on les étale sur des bactéries indicatrices, forment plus de plages que des bactéries $F^+(\lambda)^+$ ou $F^-(\lambda)^+$. Cette différence est due à l'induction zygotique, les bactéries $Hfr H(\lambda)^+$ se conjuguant, sur la boîte de gélose, avec les bactéries de la souche indicatrice.

40^e minute environ pour atteindre un plateau qui correspond à environ 50 % du nombre initial de bactéries Hfr. A partir de la 80^e minute, le nombre des centres infectieux s'élève à nouveau pour atteindre, à 150 minutes environ, un second plateau, 80 fois plus élevé, environ, que le premier. Pendant les 40 premières minutes, une dilution de 1 000 fois en bouillon additionné de streptomycine maintient sensible-

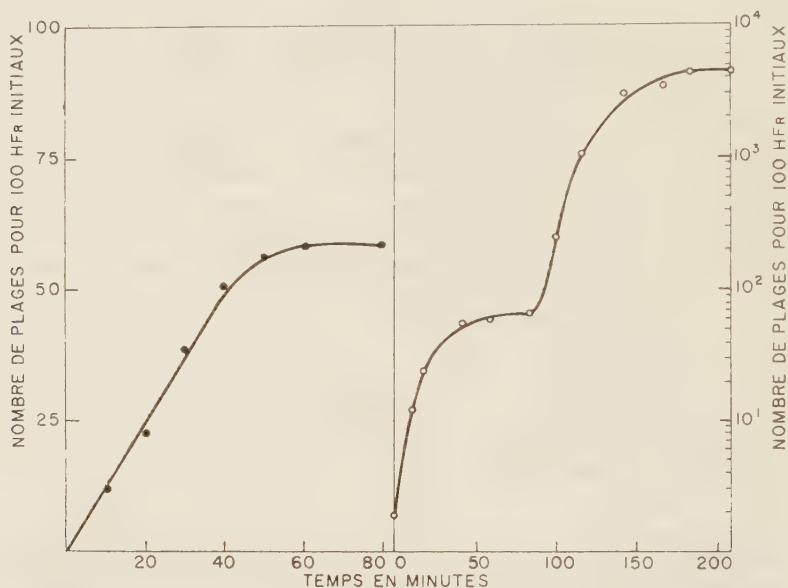


FIG. 12. — Cinétique de l'induction zytotique du prophage λ .

A temps 0, on mélange les suspensions de bactéries Hfr H(λ)+S^s (2.10^7 /ml) et de bactéries F⁻ P678(λ)-S^r λ^r (4.10^8 /ml). Le mélange (tube 1) est agité au bain-marie à 37°. A des temps variables, des échantillons sont prélevés, dilués et étalés en présence de bactéries indicatrices 112 S^r sur milieu gélosé additionné de streptomycine. Au temps 70 minutes après le mélange, le tube initial est dilué 1/100 en bouillon et la dilution (tube 2) est agitée à 37°. Des échantillons en sont prélevés à temps variables de manière à suivre la production de phages λ dus à l'induction zytotique. En abscisse : le temps, en minutes, après le mélange initial. En ordonnée : le nombre de centres infectieux rapporté au nombre initial de bactéries Hfr; à gauche, sur une échelle normale; à droite, sur une échelle logarithmique.

ment, jusqu'à la 80^e minute environ, le nombre des centres infectieux au niveau atteint au moment de la dilution. Une fois le premier plateau atteint, la dilution reste sans effet sur l'ascension ultérieure et le second plateau est atteint dans les mêmes conditions que dans une expérience « à cycle unique ».

La signification de cette expérience est claire : la première partie

de la courbe est une expression de la cinétique de la conjugaison ; le premier plateau représente la période latente qui s'écoule entre l'induction du prophage et la lyse ; la seconde partie ascendante de la courbe, enfin, correspond à la lyse des bactéries F^- et à la libération des particules infectieuses (rendement moyen 80).

Un autre type d'expérience permet de confirmer que le développement et la maturation du bactériophage λ se font bien dans les bactéries $F^-(\lambda)-\lambda^r$ réceptrices et non dans les bactéries $Hfr(\lambda)^+$ donatrices. On sait que le phage λ libéré par des bactéries *E. coli* C forme environ mille fois moins de plages sur *E. coli* K12 S que sur *E. coli* C, tandis que le phage λ libéré par des bactéries K12 forme autant de plages sur K12 que sur C (Weiglé et Bertani, 1953). On sait, d'autre part, que *E. coli* C est F^- et peut être croisé avec K12 F^+ (Lieb, Weiglé et Kellenberger, 1955) ou Hfr. Dans l'expérience représentée sur le tableau XI, des bactéries $Hfr(\lambda)^+S^s$ ont été croisées, d'une part, avec des bactéries F^- K12(λ)- $S^r\lambda^r$, d'autre part, avec des bactéries F^- C(λ)- $S^r\lambda^r$. Les centres

TABLEAU XI

Modification phénotypique des phages λ libérés dans un croisement entre bactéries K12 Hfr H lysogènes et C F^- non lysogènes.

Croisement	Dilution à $t =$ (minutes)	Nombre de plages formées pour 100 Hfr initiaux			
		Etalement à 40 minutes sur		Etalement à 200 minutes sur	
		K12	C	K12	C
Hfr H(λ)+ $S^s \times$ K12 $F^-(\lambda)-S^r\lambda^r$ }	20	21	23	1 320	1 260
	40	53	56	3 070	3 210
Hfr H(λ)+ $S^s \times$ CF-(λ)- $S^r\lambda^r$. }	20	2,7	21	9,3	1 310
	40	5,3	55	17,2	3 720

Les bactéries $Hfr H(\lambda)^+S^s$ sont mélangées, d'une part avec des bactéries K12 $F^-(\lambda)-S^r\lambda^r$, et d'autre part avec des bactéries C $F^-(\lambda)-S^r\lambda^r$. A des temps variables, les suspensions sont diluées et des échantillons sont étalés sur gélose à la streptomycine en présence, d'une part, de bactéries indicatrices K12 S^r , d'autre part de bactéries C S^r . Les étalements réalisés à 40 minutes indiquent le nombre de centres infectieux bactériens dus à l'induction zygote. Les étalements réalisés à 200 minutes fournissent le nombre de centres infectieux correspondant aux phages libérés par la lyse des bactéries F^- réceptrices.

infectieux formés à 20 et 40 minutes et les phages libérés par la lyse de ces centres infectieux ont été étalés respectivement sur *E. coli* C et sur *E. coli* K12.

Dans le second croisement ($\text{Hfr}(\lambda)^+ \text{S}^s \times \text{C}(\lambda)^- \text{S}^r$), un dixième seulement des centres infectieux formés au cours de la conjugaison peut être décelé par étalement sur *E. coli* K12. Après la lyse de ces centres infectieux, moins d'une particule libérée sur 200 est capable de former une plaque sur K12. Ces particules, dans leur grande majorité, se sont donc développées dans les bactéries F⁻C réceptrices.

Ainsi, dans un croisement entre bactéries Hfr H lysogènes et bactéries F⁻ non lysogènes, le prophage λ de plus de la moitié des bactéries Hfr se développe dans des bactéries F⁻, qui se lysent et libèrent du bactériophage. On appellera *taux d'induction zygotique* (T.I.Z.), le nombre de centres infectieux formés par les bactéries réceptrices pour 100 bactéries initiales du type parental minoritaire, c'est-à-dire, en général, pour 100 bactéries Hfr initiales.

Quoique les effets génétiques de l'induction zygotique soient comparables dans les croisements $\text{Hfr H}(\lambda)^+ \times \text{F}^-(\lambda)^-$ et dans les croisements $\text{F}^+(\lambda)^+ \times \text{F}^-(\lambda)^-$, la démonstration du phénomène est, dans ce dernier cas, beaucoup plus difficile à faire en raison de sa rareté. Il faut donc souligner que le taux d'induction zygotique observé varie, dans les deux cas, dans le même sens que la fréquence de recombinaison.

Les croisements entre bactéries $\text{Hfr H}(\lambda)^+$ et bactéries $\text{F}^-(\lambda)^-$ offrent de grands avantages pour l'étude de la conjugaison bactérienne. Ces avantages, qui apparaîtront dans la suite de cet exposé, tiennent en particulier à la valeur élevée du taux d'induction zygotique, à la simplicité et à la précision des méthodes de numération des centres infectieux, au fait, enfin, qu'un prophage inductible tel que λ soit un caractère génétique des bactéries donatrices qui s'exprime dans le zygote.

On peut, en particulier, rechercher par cette méthode si, lorsque des bactéries Hfr H en excès sont mélangées à des bactéries F⁻, plus d'une bactérie Hfr peut se conjuguer avec la même bactérie F⁻. Des bactéries F⁻ non lysogènes sont, dans ce but, ajoutées à un mélange, en proportions égales, de deux souches de bactéries Hfr H, chacune lysogène pour un type mutant différent du bactériophage λ . L'analyse des productions individuelles des zygotes révèle que chacun d'eux produit, soit l'un, soit l'autre type de phage. Il y a donc tout lieu de penser qu'en règle générale une seule bactérie Hfr peut effectivement participer à la conjugaison (Jacob et Wollman, 1956b).

Dans les conditions habituelles des croisements, la participation de plusieurs bactéries Hfr à la formation du même zygote est d'ailleurs exclue puisque ce sont les bactéries F⁻ réceptrices qui se trouvent en excès.

B. — *Le mécanisme de l'induction zygote.*

L'induction zygote illustre d'une manière particulièrement frappante la conception de Hayes du transfert à sens unique de matériel génétique au cours de la conjugaison. En effet, dans les croisements $Hfr\ H(\lambda)^- \times F^-(\lambda)^+$, l'induction zygote ne se produit pas (tableau XII). Elle ne se produit pas non plus dans les croisements $Hfr\ H(\lambda)^+ \times F^-(\lambda)^+$ comme on peut le démontrer en utilisant une souche F^- lysogène défective (tableau XII). Lorsque les bactéries réceptrices perpétuent un prophage homologue, le prophage des bactéries Hfr donatrices n'est donc pas induit par la conjugaison. Mais si les mêmes bactéries réceptrices $F^-(\lambda d_1)^+$ ont été, avant le croisement, exposées à la lumière ultraviolette, le développement du matériel phagique introduit par conjugaison se produit (tableau XII).

TABLEAU XII

*Absence d'induction zygote dans les croisements
entre bactéries $Hfr\ H$ et bactéries F^- lysogènes.*

	Nombre de plages pour 100 bactéries du type lysogène minoritaire. Dilution et étalement à $t =$	
	20 minutes	40 minutes
Témoin $Hfr(\lambda)^+$	0,27	0 41
Témoin $F^-(\lambda)^+$	1,2	2,6
Témoin $F^-(\lambda d_1)^+$	< 0,01	< 0,01
Croisement $Hfr(\lambda)^+ \times F^-(\lambda)^-$	24,8	52,1
Croisement $Hfr(\lambda)^- \times F^-(\lambda)^+$	1,4	3,3
Croisement $Hfr(\lambda)^+ \times F^-(\lambda d_1)^+$	0,36	0,8
Croisement $Hfr(\lambda)^+ \times F^-(\lambda d_1)^+$ induit .	9,1	19,2

Les croisements sont réalisés dans les conditions habituelles. Dans tous les cas, ce sont les bactéries lysogènes normales qui sont en minorité (proportion 1/20) : les bactéries $Hfr(\lambda)^+$ dans les croisements 1, 3 et 4, les bactéries $F^-(\lambda)^+$ dans le second croisement. Les étalements sont réalisés sur gélose à la streptomycine en présence de bactéries indicatrices 112 S^r .

Il y a toutes raisons de penser que c'est bien sous la forme d'un prophage, situé à son locus chromosomique spécifique, que le matériel génétique du phage perpétué par les bactéries donatrices est transféré

aux bactéries réceptrices. En effet, dans un croisement entre bactéries lysogènes pour des prophages homologues mais distincts, le prophage des bactéries donatrices est transmis aux recombinants génétiques avec la même fréquence que l'est, dans un croisement $\text{Hfr H}(\lambda)^- \times \text{F}^-(\lambda)^+$, le déterminant (λ^-) , et comme lui en étroite association avec le caractère Gal_b . On peut, d'autre part, démontrer qu'à l'état végétatif, le matériel génétique d'un phage n'est pas transféré des bactéries Hfr H aux bactéries F^- au cours de la conjugaison. Lorsque des bactéries Hfr sensibles, infectées par le mutant λC , ou lorsque des bactéries Hfr lysogènes préalablement induites, sont croisées avec des bactéries $\text{F}^-(\lambda)^-$ non lysogènes, le matériel phagique contenu dans les bactéries Hfr H n'est pas transféré aux bactéries F^- réceptrices. Plus encore, lorsque des bactéries Hfr H lysogènes sont surinfectées avec un mutant virulent du phage λ homologue, puis croisées avec des bactéries $\text{F}^-(\lambda)^-$, le prophage des bactéries $\text{Hfr H}(\lambda)^+$ est transféré aux bactéries F^- réceptrices et induit par la conjugaison, alors que le phage du type surinfectant n'est pas transféré (Jacob et Wollman, 1954a, 1956b).

Cependant, le transfert d'un prophage inductible tel que λ au cours de la conjugaison ne suffit pas à induire son développement puisque cette induction ne se produit pas lorsque les bactéries réceptrices sont lysogènes pour un phage homologue. Il faut que les bactéries réceptrices ne soient pas immunes (bactéries non lysogènes ou bactéries lysogènes induites) pour que le transfert du prophage λ soit suivi d'induction zygotique.

Quant au mécanisme de l'induction du prophage dans la bactérie réceptrice, on en est réduit à des hypothèses. L'induction zygotique pourrait être la conséquence de l'appariement (ou des processus qui lui font suite) entre un chromosome (ou un segment chromosomique) porteur d'un prophage et un chromosome n'en portant pas. Puisque l'induction ne se produit pas lorsque c'est le chromosome de la bactérie réceptrice qui est porteur d'un prophage, il faudrait admettre que la différence entre les deux chromosomes en présence soit telle qu'elle permette d'expliquer l'asymétrie observée. Selon une autre hypothèse, l'induction pourrait être la conséquence de la pénétration, dans une bactérie non immune, du segment chromosomique de la bactérie donatrice porteur du prophage. Il faudrait alors supposer que l'immunité des bactéries lysogènes puisse avoir une expression « cytoplasmique », sans qu'il soit possible, à l'heure actuelle, de préciser quelle pourrait être la nature de cet effet cytoplasmique.

Ainsi, dans un croisement entre bactéries $\text{Hfr H}(\lambda)^+$ et bactéries $\text{F}^-(\lambda)^-$, le taux d'induction zygotique dépasse 50 %. Si l'on fait l'hypothèse que la totalité des bactéries Hfr participent effectivement à la conjugaison, c'est plus de la moitié des zygotes pouvant être formés dans le croi-

sement qui sont détruits. Leur destruction, nous l'avons vu — et nous aurons l'occasion d'y revenir — si elle modifie les résultats du croisement, n'empêche cependant pas la formation de recombinants. Parmi les recombinants formés, on n'en trouve pratiquement jamais qui soient lysogènes. Si l'on soumet les produits de la conjugaison (au temps 70 minutes d'un croisement, voir fig. 12) à des doses inductrices de lumière ultraviolette, on n'accroît pas le nombre des centres infectieux formés par les bactéries réceptrices. Il y a donc tout lieu de penser que tout prophage λ , transféré d'une bactérie Hfr H lysogène à une bactérie F^- non lysogène, est immédiatement induit. Si l'on admet, et ceci semble vraisemblable, que cette induction est dans la grande majorité des cas productive, c'est-à-dire qu'elle se traduit par la formation d'une plage, on est conduit à conclure que le *taux d'induction zygotique du prophage λ constitue une mesure de la fréquence réelle de son transfert des bactéries Hfr H donatrices aux bactéries F^- réceptrices* (Jacob et Wollman, 1956b).

II. — RELATIONS ENTRE LE TAUX D'INDUCTION ZYGOTIQUE ET LA LOCALISATION GÉNÉTIQUE DES PROPHAGES

L'étude de l'induction zygotique semblant offrir la possibilité de mesurer la fréquence de transfert d'un prophage inductible au cours de la conjugaison, il était d'un intérêt évident d'étendre ces recherches à des prophages autres que λ . C'est dans ce but qu'ont été isolés une série de phages tempérés, actifs sur *E. coli* K12 et dont les caractères et la localisation génétique ont été décrits dans le chapitre précédent. Nous allons examiner le comportement de ces différents prophages au cours des croisements entre bactéries Hfr H lysogènes et bactéries F^- non lysogènes.

On a préparé une série de souches Hfr H, chacune lysogène pour l'un des phages tempérés choisis. Chaque souche Hfr H lysogène a été croisée, dans les mêmes conditions, avec la même souche F^- P678, et le nombre des centres infectieux formés après une heure de contact a été mesuré par étalement sur des bactéries indicatrices. Les résultats de ces expériences sont rapportés sur le tableau XIII.

Comme on peut le voir, seuls les *prophages inductibles* par la lumière ultraviolette sont aussi induits, quoique à des degrés divers, au cours de la conjugaison. Le taux d'induction zygotique d'un prophage donné est caractéristique de ce prophage et se retrouve avec une remarquable constance d'un croisement à l'autre. Seuls les résultats obtenus avec les prophages 82 et 381 ont présenté une certaine variabilité et ceci, selon

toute vraisemblance, en raison du pouvoir lysogénisant élevé des phages correspondants.

Le fait capital mis en lumière par ces expériences, c'est que le *taux d'induction zygotique des prophages inductibles dépend de leur localisation génétique*. Tous les prophages inductibles qui ont fait l'objet de cette étude sont situés sur le segment TL-Gal et au-delà de Gal_b. Or, le taux d'induction zygotique d'un prophage donné est d'autant plus élevé que ce prophage est situé plus près de Gal_b. C'est ainsi que les prophages λ , 434 et 21 (tous trois pleinement inductibles par la lumière ultraviolette et dont le pouvoir lyogénisant est peu élevé dans les conditions de nos expériences) peuvent être classés dans le même ordre aussi bien par leur taux d'induction zygotique (respectivement 58, 48 et 12 %) que par leur distance relative au caractère Gal_b (respectivement 82, 68 et 10 %).

TABLEAU XIII

Recherche de l'induction zygotique dans divers croisements entre bactéries Hfr H lysogènes et F⁻ P678 non lysogènes.

Prophages inductibles		Prophages non inductibles	
Prophage	Taux d'induction zygotique	Prophage	Taux d'induction zygotique
82	65	18	< 1
λ	58	370	< 1
434	48	62	< 1
381	25	363	< 1
21	12	W	< 1
424	9	299	< 1
466	6	186	< 1

Les divers croisements entre bactéries Hfr H lysogènes et bactéries F⁻ non lysogènes sont réalisés dans les conditions habituelles. Après 60 minutes d'agitation à 37°, les suspensions sont diluées et des échantillons étalés sur gélose à la streptomycine en présence de bactéries indicatrices 112 S^r.

Le taux d'induction zygotique d'un prophage donné n'est pas modifié par la présence, dans les bactéries réceptrices, d'un prophage non homologue, comme l'indiquent les résultats d'expériences où, par exemple, des bactéries Hfr(λ)⁺ sont croisées avec des bactéries F⁻(82)⁺ ou F⁻(434)⁺ (tableau XIV). L'immunité des bactéries F⁻ lysogènes à l'égard d'un phage donné a donc la même spécificité, que le matériel génétique de ce phage soit introduit par conjugaison ou par infection.

TABLEAU XIV

*Induction zytotique
dans des croisements entre bactéries Hfr H et F⁻ P678
perpétuant des prophages inductibles différents.*

Croisements	Nombre de plages du type Hfr pour 100 Hfr initiaux
Hfr(λ) ⁺ $\times$ F ⁻ non lysogène	52
Hfr(λ) ⁺ $\times$ F ⁻ (λd_1) ⁺	2
Hfr(λ) ⁺ $\times$ F ⁻ (82) ⁺	49
Hfr(λ) ⁺ $\times$ F ⁻ (434) ⁺	54
Hfr(434) ⁺ $\times$ F ⁻ non lysogène	46
Hfr(434) ⁺ $\times$ F ⁻ (λd_1) ⁺	47
Hfr(434) ⁺ $\times$ F ⁻ (82) ⁺	43

Les croisements sont réalisés dans les conditions habituelles (un Hfr pour vingt F⁻). Après 60 minutes de contact, les échantillons prélevés sont dilués et étalés sur gélose à la streptomycine en présence de bactéries indicatrices du type de phage perpétué par les bactéries Hfr, c'est-à-dire résistantes au type de phage perpétué par les bactéries F⁻.

D'autre part, lorsqu'on mélange des bactéries Hfr H, lysogènes pour deux phages inductibles différents mais capables de se multiplier simultanément dans une même bactérie (par exemple λ et $\pi 1$), avec des bactéries F⁻ non lysogènes, on constate que l'induction zytotique de chacun des deux prophages est indépendante de la présence de l'autre prophage. Non seulement l'induction d'un prophage donné n'est pas modifiée par la présence d'un second prophage, mais chacun des prophages est induit à son taux caractéristique.

Le taux d'induction zytotique d'un prophage donné semble donc bien dépendre de sa position sur le groupe de liaison génétique transmis à haute fréquence par les bactéries Hfr H. Ajoutons que, dans le cas d'autres mutants Hfr (Jacob et Wollman, 1956c) qui ne transmettent pas à haute fréquence le caractère Gal_b, l'induction zytotique des prophages liés à ce caractère ne s'observe plus.

Quant aux prophages *non inductibles* par la lumière ultraviolette, ils ne sont bien entendu pas induits au cours des croisements Hfr H(ly)⁺ $\times$ F⁻(ly)⁻ puisqu'ils ne sont pas situés sur le groupe de liaison transmis à haute fréquence par les bactéries Hfr H (tableau XIII). En mettant en œuvre d'autres mutants Hfr qui, eux, transmettent à haute fré-

quence des caractères tels que maltose (Mal) ou xylose (Xyl) auxquels certains de ces prophages sont liés, on n'observe pas non plus d'induction zygotique de ces prophages. Un prophage non inductible, situé sur le groupe de liaison transmis à haute fréquence par une souche Hfr donnée, ségrège parmi les recombinants d'un croisement $\text{Hfr}(\text{ly})^+ \times \text{F}^-(\text{ly})^-$ de la même façon que le caractère $(\text{ly})^-$ correspondant dans le croisement inverse $\text{Hfr}(\text{ly})^- \times \text{F}^-(\text{ly})^+$.

Seuls les prophages dont le développement peut être induit par des agents tels que la lumière ultraviolette peuvent donc être induits lorsqu'ils sont transférés de bactéries donatrices lysogènes à des bactéries réceptrices non lysogènes (Jacob et Wollman, 1956b).

III. — LES EFFETS GÉNÉTIQUES DE L'INDUCTION ZYGOTIQUE

Dans les croisements où se produit l'induction zygotique, une fraction des zygotes formés est détruite. Nous allons étudier les répercussions, aussi bien quantitatives que qualitatives, de ce phénomène, sur la formation des recombinants génétiques. Nous examinerons d'abord les modifications apportées aux résultats des croisements entre bactéries Hfr H et bactéries F^- par l'induction zygotique du prophage λ , puis nous les comparerons aux modifications qu'entraîne l'induction zygotique d'autres prophages inductibles.

A. — *Effets génétiques de l'induction zygotique du prophage λ .*

Dans un croisement entre bactéries $\text{Hfr H}(\lambda)^+\text{S}^s$ et bactéries $\text{F}^- \text{P678}(\lambda)^-\text{S}^r$, on peut évaluer, d'une part, le nombre des centres infectieux dus à l'induction zygotique et, d'autre part, le nombre de recombinants $\text{T}^+\text{L}^+\text{S}^r$ et Gal^+S^r formés. Le croisement est réalisé dans les conditions habituelles déjà décrites et les résultats obtenus sont comparés aux résultats d'un croisement $\text{Hfr H}(\lambda)^+\text{S}^r \times \text{P678}(\lambda)^+\text{S}^r$ témoin. Nous nous bornerons à l'examen des échantillons prélevés après 60 minutes de contact, durée au bout de laquelle le nombre des centres infectieux et le nombre des recombinants formés ne varient plus. Les résultats d'un croisement de ce type ont déjà été mentionnés (chap. VI).

1) *Les fréquences de recombinaison.* — Quoique dans un tel croisement (tableau XV), le taux d'induction zygotique soit de 57 %, la destruction d'un nombre de zygotes qui correspond à plus de la moitié des bactéries Hfr mises en jeu, n'empêche pas la formation de recom-

binants. Les fréquences de recombinaison diffèrent cependant de celles du croisement témoin. Fait important, le nombre des recombinants $T^+L^+S^r$ et celui des recombinants Gal^+S^r ne sont pas réduits dans les mêmes proportions. Si, par rapport au croisement témoin, la fréquence des recombinants $T^+L^+S^r$ passe de 17 % à 7 % (réduction d'un facteur 2,4), celle des recombinants Gal^+S^r passe de 4 % à 0,13 % (réduction d'un facteur 30). Le rapport $T^+L^+S^r/Gal^+S^r$ qui était de 4,3 dans le croisement témoin s'élève à 52.

L'induction zygotique affecte donc d'une manière inégale la formation des divers types de recombinants : la destruction de la moitié de tous les zygotes possibles réduit de moitié le nombre des recombinants $T^+L^+S^r$, mais beaucoup plus celui des recombinants Gal^+S^r . Comme le prophage λ est étroitement lié au caractère Gal_b , tout se passe comme si la transmission d'un caractère génétique à un recombinant était d'autant plus affectée par l'induction zygotique que ce caractère est situé plus près du locus spécifique du prophage (Wollman et Jacob, 1954, 1957).

TABLEAU XV

*Effet de l'induction zygotique du prophage λ
sur les fréquences de recombinaison observées dans des croisements
entre bactéries Hfr H lysogènes et bactéries F^- non lysogènes.*

Croisements	Fréquence des recombinants		Rapport $\frac{T^+L^+S^r}{Gal^+S^r}$	Taux d'induction zygotique
	$T^+L^+S^r$	Gal^+S^r		
Hfr(λ) ⁺ × P678(λ) ⁺ . .	16,8	3,9	4,3	—
Hfr(λ) ⁺ × P678(λ) ⁻ . .	6,8	0,13	52	57
Hfr(λ) ⁺ × Y10(λ) ⁺ . . .	38,9	—	—	—
Hfr(λ) ⁺ × C600(λ) ⁻ . .	18	—	—	54,5

Les effets génétiques de l'induction zygotique du prophage λ se manifestent de la même façon dans tous les croisements où ce phénomène se produit. C'est ainsi que la fréquence des recombinants $T^+L^+S^r$ est deux fois plus élevée dans un croisement Hfr(λ)⁺ × Y10(λ)⁺ que dans un croisement Hfr(λ)⁺ × P678(λ)⁺. Dans les croisements correspondants Hfr(λ)⁺ × C600(λ)⁻ et Hfr(λ)⁺ × P678(λ)⁻ l'induction zygotique, qui détruit plus de 50 % des zygotes possibles, réduit dans les mêmes pro-

portions le nombre de recombinants $T^+L^+S^r$ formés (tableau XV).

La cinétique d'apparition des recombinants est également très différente dans les croisements où l'induction zygotique a lieu et dans ceux où elle ne se produit pas. Dans un croisement $Hfr(\lambda)^+ \times F^-(\lambda)^+$ témoin, comme dans un croisement $Hfr(\lambda)^- \times F^-(\lambda)^-$ (voir fig. 8), le nombre des recombinants $T^+L^+S^r$ et Gal^+S^r augmente régulièrement en fonction du temps pour atteindre un plateau vers la 50^e minute. Dans un croisement $Hfr(\lambda)^+ \times F^-(\lambda)^-$, au contraire, alors que le nombre des centres infectieux progresse de manière régulière (voir fig. 12), l'évolution du nombre des recombinants $T^+L^+S^r$ (et aussi, dans une certaine mesure, des recombinants Gal^+S^r , trop rares cependant pour que cette évolution puisse être suivie avec précision) est très irrégulière. Le nombre de ces recombinants croît d'abord jusqu'à la 15^e ou 20^e minute, puis il n'augmente plus qu'irrégulièrement, ou reste constant ou même diminue. Dans tous les cas, cependant, un plateau est atteint avant la 60^e minute. La signification de ces résultats sera discutée plus loin (voir chapitre IX).

2) *L'analyse génétique des recombinants.* — Les déformations qu'introduit l'induction zygotique dans les résultats d'un croisement apparaissent clairement à l'analyse génétique des recombinants formés. Si l'on compare avec les résultats obtenus au cours d'un croisement témoin (tableau XIV), les fréquences avec lesquelles apparaissent, parmi les recombinants $T^+L^+S^r$, les différents caractères génétiques du type parental Hfr H, on constate que ces fréquences sont d'autant plus réduites que les caractères considérés sont plus éloignés des caractères T^+L^+ sélecteurs. La constitution génétique des rares recombinants Gal^+S^r formés est, au contraire, peu différente de celle des recombinants Gal^+S^r formés dans un croisement témoin. Quant au caractère lysogène du type parental Hfr il n'est pratiquement jamais transmis aux recombinants : le nombre de cas où l'on retrouve le prophage λ chez un recombinant est de l'ordre de grandeur de ce que l'on peut attendre d'une lysogénisation.

Un cas particulier intéressant est celui des croisements entre bactéries Hfr H, lysogènes défectives, et bactéries F^- non lysogènes. Une culture de telles bactéries défectives Hfr $H(\lambda d)$ se lyse complètement lorsqu'elle est soumise à une faible dose de lumière ultraviolette, mais ne libère que de très rares particules infectieuses de bactériophage λ . Dans un croisement $Hfr(\lambda d)^+ \times F^-(\lambda)^-$, c'est l'analyse génétique qui, malgré l'absence de centres infectieux, révèle que l'induction zygotique se produit exactement comme dans un croisement témoin entre bactéries Hfr H lysogènes normales et bactéries F^- non lysogènes (tableau XVI). L'induction zygotique ne se manifeste dans ce cas que par ses conséquences génétiques.

TABLEAU XVI

Effets de l'induction zygoteique sur la constitution génétique des recombinants formés dans divers croisements entre bactéries Hfr H lysogènes et bactéries F⁻ non lysogènes.

Croisements	Rapport T+L+S ^r Gal+S ^r	Recom- binants	Constitution génétique					
			T+L+	Az ^s	T _I ^s	Lac+	Gal _b +	(ly)+
Hfr(λ)+ × P678(λ)+ .	4,2	T+L+S ^r Gal+S ^r	100 80	90 78	70 78	47 82	29 100	— —
Hfr(λ)+ × P678(λ)- .	54	T+L+S ^r Gal+S ^r	100 82	86 79	60 78	21 74	2,5 100	< 0,1 < 1
Hfr(λd)+ × P678(λ)- .	52	T+L+S ^r	100	84	59	24	2,2	< 0,1
Hfr(82)+ × P678(82)- .	62	T+L+S ^r	100	84	58	18	2,1	< 1
Hfr(434)+ × P678(434)- .	43	T+L+S ^r	100	90	62	26	3,2	< 1
Hfr(21)+ × P678(21)- .	10	T+L+S ^r	100	89	65	33	13,5	< 1
Hfr(424)+ × P678(424)- .	6,5	T+L+S ^r	100	88	68	36	20	< 1
Hfr(466)+ × P678(466)- .	5,3	T+L+S ^r	100	90	73	42	27	< 1

L'induction zygoteique affecte donc d'une manière très inégale la transmission à des recombinants des caractères génétiques des bactéries Hfr donatrices. Un caractère donné est d'autant moins transmis qu'il est plus lié au prophage λ. Cette réduction, par rapport à un croisement témoin, est de 2,4 pour les caractères TL, 30 pour Gal_b et 2 400 pour λ.

Les effets de l'induction zygoteique, tant sur la fréquence des recombinants formés que sur leur constitution génétique, accentuent la polarité du segment TL-Gal que révélait déjà l'analyse des croisements où l'induction zygoteique ne se produit pas. Le développement du prophage λ, qui aboutit à la destruction d'une fraction importante des zygotes, semble réaliser une sélection parmi ceux-ci : tout se passe comme si seuls survivaient les zygotes qui n'ont pas reçu le prophage λ et, partant, les caractères génétiques tels que Gal_b auquel ce prophage est lié (Wollman et Jacob, 1954a, 1957). L'interprétation qu'il convient de donner de ces résultats sera discutée plus loin.

**B. — Effets génétiques de l'induction zygotique
de divers prophages.**

Les taux d'induction zygotique observés dans les croisements entre bactéries Hfr H lysogènes et bactéries F^- non lysogènes varient selon le type de prophage en cause. On doit donc s'attendre à ce que les effets génétiques de l'induction zygotique varient également d'un croisement à l'autre.

Les résultats d'une série de croisements entre des bactéries Hfr H lysogènes pour divers phages tempérés inductibles et les mêmes bactéries F^- P678 non lysogènes sont présentés sur le tableau XVI. On a mesuré dans chaque cas le taux d'induction zygotique et le nombre des recombinants $T^+L^+S^r$ et Gal^+S^r formés. De plus, la constitution génétique des recombinants $T^+L^+S^r$ a été déterminée.

Dans chaque croisement, le rapport du nombre de recombinants $T^+L^+S^r$ au nombre de recombinants Gal^+S^r peut être utilisé comme une mesure de l'effet de l'induction zygotique sur la formation des recombinants. Ce rapport, qui est voisin de 4 dans un croisement témoin où l'induction zygotique ne se produit pas, s'élève à 50 dans les croisements $Hfr\ H(\lambda)^+ \times F^-(\lambda)^-$. On voit que, dans les divers croisements $Hfr\ H(ly)^+ \times F^-(ly)^-$, le rapport $T^+L^+S^r/Gal^+S^r$ est d'autant plus élevé que le taux d'induction zygotique est lui-même plus élevé. L'ordre dans lequel on peut classer les différents prophages inductibles est donc le même, que l'on prenne en considération soit le *taux d'induction zygotique*, soit le *rapport $T^+L^+S^r/Gal^+S^r$* dans un croisement $Hfr\ H(ly)^+ \times P678(ly)^-$, soit enfin la *liaison $Gal_b^+ - prophage$* dans un croisement $Hfr(ly)^- \times P678(ly)^+$.

L'analyse des recombinants $T^+L^+S^r$ montre que leur constitution génétique est d'autant plus altérée, par rapport à celle des mêmes recombinants formés dans un croisement témoin, que le prophage porté par les bactéries Hfr H est situé plus près du caractère Gal_b (tableau XVI). La constitution génétique des recombinants Gal^+S^r , au contraire, ne diffère pas de celle que l'on observe dans un croisement témoin où l'induction zygotique ne se produit pas. Enfin, le caractère lysogène du type parental Hfr H n'est pratiquement jamais transmis aux recombinants (Jacob et Wollman, 1957a, 1958b).

Ainsi, le taux d'induction zygotique, l'effet de cette induction zygotique sur la formation des recombinants et la fréquence d'apparition, parmi les recombinants $T^+L^+S^r$, des caractères distaux du segment TL-Gal, dépendent tous et de la même manière de la position qu'un prophage inductible occupe sur le chromosome de la bactérie donatrice.

*
* *

L'induction zygotique et ses effets génétiques offrent une illustration particulièrement claire des deux polarités qui caractérisent les croisements entre bactéries Hfr et F^- : la polarité sexuelle (transfert unidirectionnel de matériel génétique) et la polarité génétique (inégaie transmission aux recombinants des caractères génétiques des bactéries donatrices). Un prophage inductible, porté par les bactéries Hfr donatrices, est le seul caractère génétique de ces bactéries qui, lors de la conjugaison, soit exprimé dès le stade zygote. L'induction zygotique offre donc la possibilité de reconnaître, dans le processus de conjugaison bactérienne, deux étapes principales, la formation des zygotes d'une part, la formation des recombinants génétiques d'autre part.

Il y a tout lieu de penser que tout prophage inductible, lorsqu'il est transféré d'une bactérie donatrice lysogène à une bactérie réceptrice non lysogène, est immédiatement induit. L'expression de ce déterminant génétique peut donc être décelée dans chaque bactérie ayant reçu le prophage à la faveur de la conjugaison. *Le taux d'induction zygotique serait, par conséquent, l'expression quantitative de la fréquence de transfert d'un prophage donné* (Jacob et Wollman, 1956b). Différents prophages inductibles sont d'autant moins induits par la conjugaison qu'ils sont situés plus loin sur la partie distale du segment chromosomique transféré par les bactéries Hfr H au cours de la conjugaison. Ceci indiquerait que la fréquence de leur transfert et partant celle du transfert de tout caractère génétique qui leur est lié sont d'autant plus faibles que ce caractère est situé plus loin du caractère Gal_b par rapport aux caractères TL. La polarité génétique que l'on observe dans les résultats des croisements pourrait n'être que le reflet d'une *polarité de transfert*.

CHAPITRE VIII

LES ÉTAPES DE LA CONJUGAISON BACTÉRIENNE

Jusqu'à la découverte de l'induction zygotique, on ne connaissait qu'une seule expression de la conjugaison bactérienne : la formation de recombinants génétiques. On ne se trouvait donc pas à même d'individualiser ni d'étudier de manière quantitative les différentes étapes qui se succèdent entre le moment où des bactéries de types sexuels opposés sont mises en présence et celui où apparaît un clone de recombinants génétiques. Aussi avait-on accoutumé d'englober, sous le nom de recombinaison génétique, tous les faits observés, y compris ceux qui avaient manifestement trait à des étapes plus précoces du processus de conjugaison. Il en résultait une certaine confusion, non seulement dans les termes, mais aussi dans l'interprétation des faits. C'est ainsi qu'il était implicitement admis que la fréquence de recombinaison était l'expression même de la fréquence de la conjugaison et que, par exemple, une basse fréquence de recombinaison signifiait une basse fréquence de conjugaison.

On peut distinguer deux phases principales dans la conjugaison bactérienne. La première, ou *formation des zygotes*, s'étend depuis la rencontre de bactéries de types sexuels opposés jusqu'à la constitution d'un zygote par transfert de matériel génétique de bactérie donatrice à bactérie réceptrice.

La seconde, ou *formation des recombinants*, qui se déroule dans la bactérie réceptrice, devenue zygote à la suite du transfert de matériel génétique, s'étend jusqu'à la formation d'un clone pur de bactéries de type recombinant.

L'induction zygotique permet, dans une certaine mesure, de distinguer ces deux phases, puisqu'un prophage inductible porté par les bactéries donatrices est un caractère génétique dont le transfert aux zygotes peut être immédiatement reconnu. En comparant les résultats de croisements où l'induction zygotique a lieu avec les résultats des croisements où elle ne se produit pas, on peut tenter d'évaluer la part

respective des événements qui conduisent à la formation des zygotes et de ceux qui aboutissent à la formation de recombinants génétiques (Jacob et Wollman, 1955a ; Wollman, Jacob et Hayes, 1956).

I. — LA CONJUGAISON BACTÉRIENNE ET SES MODES D'EXPRESSION

Pour réaliser une analyse quantitative de la conjugaison, les éléments que l'on peut mesurer sont, d'une part, le nombre de recombinants formés et, d'autre part, dans un croisement entre bactéries donatrices lysogènes et bactéries réceptrices non lysogènes, le nombre de centres infectieux dus à l'induction zygotique.

La *fréquence de recombinaison*, observée dans une sélection donnée, exprime la fréquence avec laquelle le — ou les — caractères génétiques sélectionnés sont *transmis* des bactéries donatrices aux recombinants.

Le *taux d'induction zygotique* d'un prophage inductible exprime la fréquence avec laquelle ce prophage est *transféré* des bactéries donatrices lysogènes aux bactéries réceptrices non lysogènes.

Il y a toutes raisons de croire que différents caractères génétiques des bactéries donatrices ne sont pas transférés aux zygotes avec des fréquences identiques. D'autre part, lorsqu'un caractère a été transféré des bactéries donatrices aux zygotes, il n'est pas toujours hérité par un recombinant. Pour un déterminant génétique donné, il convient donc de déterminer, d'une part, la *fréquence de son transfert* des bactéries donatrices aux zygotes, puis la probabilité pour que ce déterminant réapparaisse dans un recombinant génétique. Cette probabilité sera désignée par le terme de *coefficient d'intégration*.

La *fréquence de transmission*, qui est fournie par la mesure de la fréquence de recombinaison, est un composé de ces deux variables.

En comparant les renseignements fournis par les méthodes de mesure dont nous disposons, on peut estimer la fréquence de la conjugaison et obtenir des indications sur les différentes étapes de ce processus.

A. — La cinétique de la conjugaison.

Soit un croisement entre bactéries Hfr $H(\lambda)^+S^s$ et bactéries $F^- P678(\lambda)^+S^r$ d'une part, un croisement entre bactéries Hfr $H(\lambda)^+S^s$ et bactéries $F^- P678(\lambda)^-S^r$ d'autre part. Ces deux croisements sont réalisés dans les conditions habituelles ($2 \cdot 10^7$ Hfr et $4 \cdot 10^8$ F^- par millilitre, agitation à 37°). A temps variable, après le mélange, on dénombre dans

le premier cas les recombinants $T^+L^+S^r$ et Gal^+S^r ; dans le second cas, ces mêmes recombinants et les centres infectieux qui sont dus à l'induction zygotique. Des expériences semblables ont déjà été décrites dans les chapitres V et VII. Pour simplifier la présentation (et du fait de l'irrégularité des courbes qui représentent la cinétique d'apparition des recombinants dans un croisement où l'induction zygotique a lieu), on n'a représenté sur la figure 13 que l'évolution du nombre des recombinants formés dans le premier croisement et celle des centres infectieux formés dans le second. On trouvera sur le tableau XV les fréquences de recombinaison et le taux d'induction zygotique mesurés après 60 minutes de contact, et sur le tableau XVI la constitution génétique des recombinants $T^+L^+S^r$.

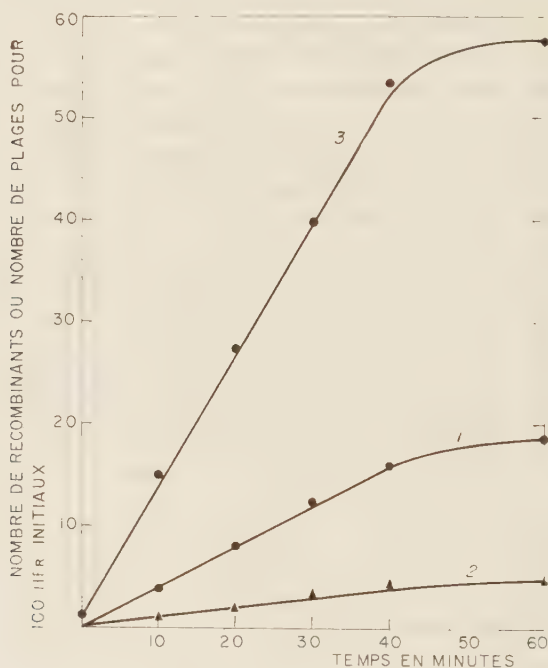


FIG. 13. — La cinétique de la conjugaison.

Les croisements $Hfr\ H(\lambda)^+S^s \times F^- P678(\lambda)^+S^r$ (croisement 1) et $Hfr\ H(\lambda)^+S^s \times F^- P678(\lambda)^-S^r$ (croisement 2) sont faits dans les conditions habituelles ($Hfr\ 2.10^7/ml$, $F^-\ 4.10^8/ml$). Les échantillons prélevés à temps variables sont étalés : pour le croisement 1, sur milieux sélectifs des recombinants $T^+L^+S^r$ (courbe 1) et des recombinants Gal^+S^r (courbe 2); pour le croisement 2, sur milieu gélosé additionné de streptomycine et de bactéries indicatrices $112\ S^r$ (courbe 3). En abscisse : le temps, en minutes, après le mélange initial. En ordonnée : le nombre de recombinants $T^+L^+S^r$ (courbe 1) et Gal^+S^r (courbe 2) formés dans le croisement 1; le nombre de centres infectieux (courbe 3) formés dans le croisement 2. Ces nombres sont rapportés au nombre initial de bactéries Hfr .

L'examen de la figure 13 et du tableau XV montre combien variées peuvent être les expressions de la conjugaison des mêmes bactéries Hfr H(λ)⁺. Chacune d'elles, prise isolément, ne peut donner qu'une idée bien imparfaite de la fréquence de conjugaison : la fréquence des recombinants Gal⁺S^r, par exemple, n'atteint que 0,13 % dans un croisement Hfr(λ)⁺ $\times$ F⁻(λ)⁻, alors que le taux d'induction zygotique, dans le même croisement, s'élève à 57 %.

Il est clair, cependant, que les différentes courbes de la figure 13 sont bien les expressions du même phénomène. Comme il a déjà été indiqué, en effet, toutes ces courbes s'extrapolent à l'origine, toutes atteignent un plateau sensiblement au même temps, en dépit des grandes différences dans les valeurs du plateau atteint. Il apparaît donc que, quelle que soit son expression, la conjugaison a atteint une valeur maximum au bout de 50 minutes environ et que ce maximum est atteint à la vitesse d'environ 2,5 % par minute.

Le fait que les différentes courbes de la figure 13 passent par l'origine des axes de coordonnées indique que la dilution des échantillons prélevés et l'étalement sur gélose suffisent à empêcher tout nouveau contact entre bactéries de types sexuels différents. Il indique surtout que le processus de conjugaison commence dès que les bactéries ont été mises en présence. La partie ascendante des courbes est donc l'expression, dans les conditions expérimentales choisies, de la formation d'*appariements spécifiques* ou *contacts efficaces* entre bactéries de types sexuels opposés. Ces contacts efficaces sont assez solides pour résister à la dilution et à l'étalement, de telle sorte que les étapes ultérieures, c'est-à-dire le transfert de matériel génétique des bactéries donatrices aux bactéries réceptrices et la recombinaison génétique, soient à même de se poursuivre sur le milieu gélosé.

B. — La fréquence de conjugaison.

Le fait que les courbes de la figure 13 atteignent un plateau au même moment indique qu'à 50 minutes la totalité des bactéries Hfr susceptibles de transférer du matériel génétique aux bactéries F⁻ ont effectivement participé à la conjugaison. La valeur du taux d'induction zygotique du prophage λ montre qu'il ne peut s'agir de moins de la moitié des bactéries Hfr.

Cependant, la destruction de plus de la moitié des zygotes pouvant être formés dans un croisement Hfr(λ)⁺ $\times$ F⁻(λ)⁻ ne réduit qu'environ de moitié le nombre des recombinants T⁺L⁺S^r par rapport aux résultats obtenus dans le croisement témoin Hfr(λ)⁺ $\times$ F⁻(λ)⁺. On est donc amené à conclure que c'est la *quasi-totalité* des bactéries Hfr H mises en jeu

dans le croisement qui ont effectivement participé à la conjugaison et transféré à des bactéries réceptrices un segment chromosomique portant les déterminants des caractères T et L (Jacob et Wollman, 1955a ; Wollman et Jacob, 1957).

Puisque, dans un croisement donné, la fréquence de recombinaison que l'on observe dans une sélection particulière ne permet, à elle seule, de tirer aucune conclusion quant à la fréquence de conjugaison, on peut se demander si, dans les croisements à basse fréquence de recombinaison, la conjugaison ne serait pas en réalité aussi fréquente que dans les croisements à haute fréquence de recombinaison. La différence entre bactéries F^+ et bactéries Hfr pourrait, en effet, porter sur d'autres propriétés que celle d'établir des contacts efficaces avec les bactéries réceptrices F^- et de transférer à celles-ci du matériel génétique. Il semble bien en être ainsi. On sait que l'efficacité avec laquelle des bactéries F^+ sont capables de transmettre le « facteur F » à des bactéries F^- est telle que ce facteur a été considéré comme étant « infectieux » (Cavalli, Lederberg et Lederberg, 1953). Or, la cinétique de l'acquisition du caractère F^+ est, en fait, comparable aux cinétiques représentées sur la figure 13, et il y a tout lieu de penser qu'elle s'accomplit à la faveur de la conjugaison (Jacob et Wollman, 1955a).

Ainsi, la conjugaison des bactéries *E. coli* K12 n'est pas l'événement rare que l'on avait pu croire tout d'abord. C'est, au contraire, un phénomène d'une très grande efficacité puisque, tout au moins dans le cas des bactéries Hfr H et F^- , c'est la totalité des bactéries de types sexuels opposés qui y participent.

C. — Observation directe de la conjugaison.

Cette fréquence élevée de la conjugaison que révélait l'induction zygotique du prophage λ devait la rendre accessible à l'observation directe. Grâce à la collaboration de T. F. Anderson, il a été possible d'étudier les aspects morphologiques de la conjugaison en microscopie électronique (Anderson, Wollman et Jacob, 1957). Afin d'éviter, dans l'interprétation des images, toute ambiguïté qui aurait pu provenir de la difficulté à reconnaître les bactéries de types sexuels opposés, il était nécessaire de mettre au point une technique permettant de les distinguer. C'est pourquoi, dans les croisements entre souches différentes d'*E. coli* K12, on a utilisé, d'une part, des bactéries sensibles au phage tempéré λ , et, d'autre part, des bactéries résistantes à ce phage. Avant le croisement, les bactéries de la souche sensible étaient « étiquetées » avec des phages λ préalablement inactivés par la lumière ultraviolette. On sait que les phages λ ainsi traités s'adsorbent normalement sur les



PLANCHE I

Croisement entre bactéries Hfr H λ⁺ et bactéries F⁻ λ^s.

Les deux bactéries sont apparées côte à côte. Dans la zone de contact, les parois semblent effacées. La bactérie F⁻ en voie de division est recouverte de bactériophages λ fixés par leur queue et dont la tête est, le plus souvent, vidée de son A.D.N.
(Préparation pour microscopie électronique et photographie de T. F. ANDERSON).

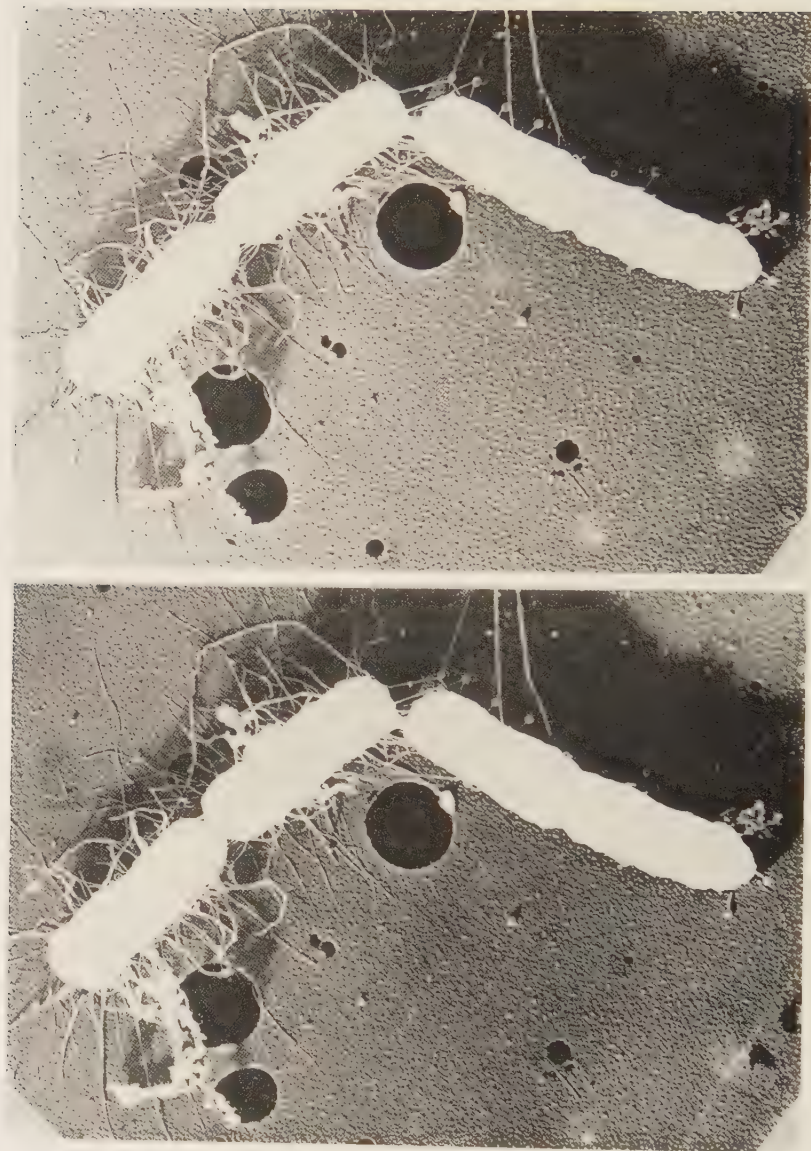


PLANCHE II

Croisement entre bactéries Hfr $H\lambda^s$ et bactéries F λ^- .

Les deux bactéries sont en voie de division. Elles sont apparées bout à bout et réunies par un pont. Ici, c'est la bactérie Hfr qui est « étiquée » par du phage λ . La bactérie F- est reconnaissable à ses nombreux filaments.

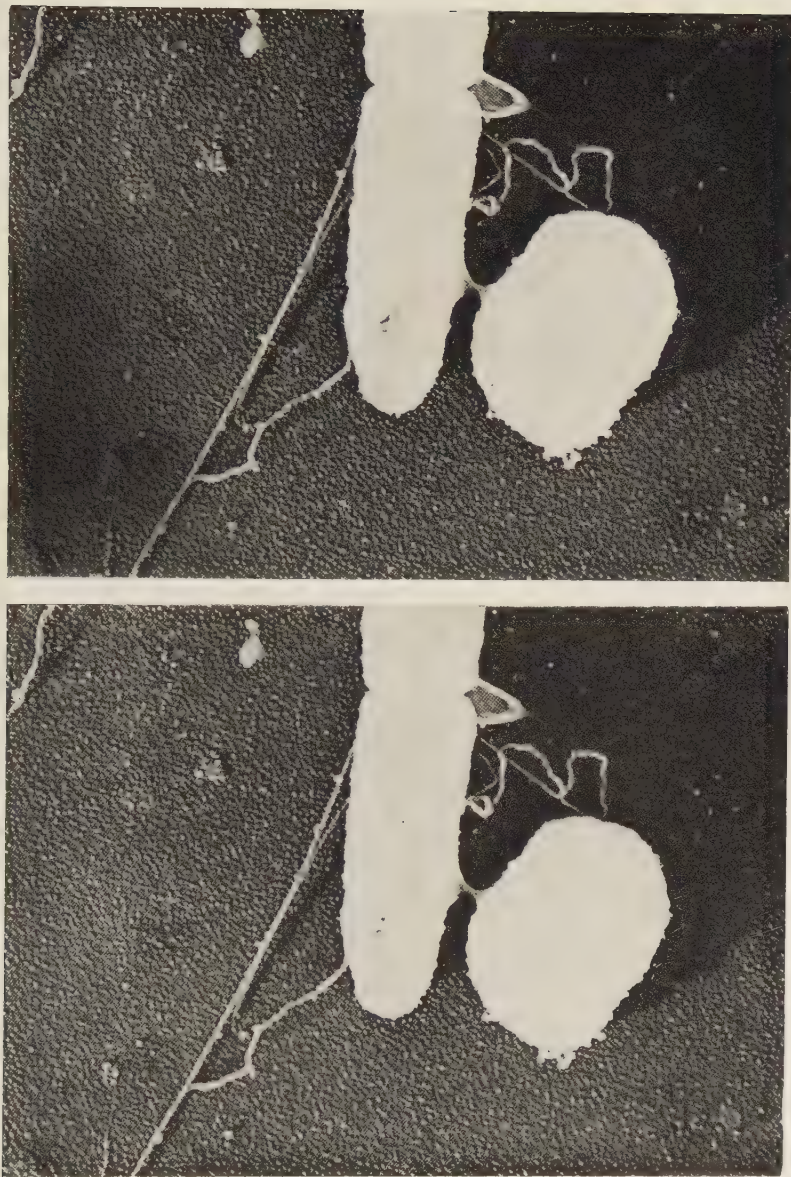


PLANCHE III

Croisement entre bactéries K12 Hfr H et C F⁻.

Les bactéries sont unies par un mince pont. On notera la différence entre la bactérie K12 Hfr allongée et en voie de division et la bactérie C grosse et arrondie. La bactérie K12 Hfr possède aussi quelques longs flagelles. (Préparation pour microscopie électronique et photographie de T. F. ANDERSON).



PLANCIE IV

Croisements entre bactéries K12 F^+ et C F^- .

En haut : Les bactéries sont unies bout à côté. Elles sont toutes deux en voie de division. La bactérie C est sensiblement plus large que la bactérie K12.

En bas : Les bactéries sont unies bout à bout. La bactérie C est beaucoup plus épaisse et plus courte que la bactérie K12.

bactéries sensibles, mais ne se multiplient pas et que les bactéries infectées survivent (Jacob et Wollman, 1954*b*). La multiplicité d'infection utilisée était de 50 à 100 phages par bactérie.

Les bactéries Hfr H et F⁻ étaient mélangées en nombre égal et le mélange agité à 37° pendant 20 à 40 minutes. Des échantillons étaient ensuite prélevés à partir desquels étaient faites, par la méthode dite « du point critique », les préparations pour examen au microscope électronique (Anderson, 1952). Quelques photographies de bactéries en voie de conjugaison sont présentées sur les planches I-IV.

Dans quelques expériences, des croisements ont été réalisés entre bactéries Hfr H de la souche *E. coli* K12 et bactéries F⁻ de la souche *E. coli* C. Celles-ci ont une forme ovoïde et sont donc faciles à distinguer des bactéries de la souche K12 (Lieb, Kellenberger et Weiglé, 1955), comme on peut le voir sur les planches III et IV. Cette dernière planche représente des figures de conjugaison entre bactéries F⁺ de la souche K12 et bactéries F⁻ de la souche C.

Dans tous les cas, les figures de conjugaison sont caractéristiques. Il ne s'agit pas de simples accollements qui pourraient n'être pas spécifiques, mais de véritables fusions. Dans ces zones, qui n'intéressent qu'une faible partie de leur surface, les parois des bactéries en conjugaison se sont effacées. Dans certains cas favorables, on voit que les bactéries de types sexuels opposés sont reliées par un véritable pont (planches II et III). Lorsque ces ponts sont assez minces pour permettre la pénétration des électrons, on constate que leur contenu a le même aspect que le cytoplasme des bactéries qu'ils relient et qu'il existe une continuité entre les deux cytoplasmes. Ces ponts, dont le diamètre est de 100 à 300 mμ, sont assez solides : il est difficile de les rompre avec une micropipette (Anderson et Mazé, 1957). Il n'existe pas, sur la surface des bactéries, de zones caractéristiques de la conjugaison. Celle-ci peut se faire bout à bout (planches II et IV), bout à côté (planche IV) ou côté à côté (planche III).

Des observations semblables peuvent être faites au microscope à contraste de phase sur des préparations à l'état frais ou même sur des préparations colorées (Lederberg, 1956 ; Anderson et Mazé, 1957), mais elles ne permettent pas de discerner la zone de contact.

Les images obtenues au microscope électronique confirment qu'il n'existe aucune relation entre la fréquence de la conjugaison et ses conséquences génétiques éventuelles, c'est-à-dire la fréquence avec laquelle seront formés des recombinants. En effet, les images de conjugaison observées dans les croisements F⁺ × F⁻ sont aussi nombreuses et aussi caractéristiques que celles que l'on peut obtenir au cours des croisements Hfr × F⁻. Ces images, enfin, apportent la démonstration directe du fait que la conjugaison n'aboutit pas à la fusion des bactéries

de types sexuels opposés, mais à l'établissement entre ces bactéries d'un « tube » de connexion par lequel, vraisemblablement, s'accomplit le transfert de matériel génétique de bactérie donatrice à bactérie réceptrice.

II. — LA FORMATION DES ZYGOTES

La première phase de la conjugaison, qui aboutit à la constitution des zygotes, comporte plusieurs étapes successives que l'on peut distinguer *a priori* et, dans une certaine mesure, individualiser par les méthodes expérimentales. Aucune de ces étapes n'a, en effet, d'expression qui lui soit propre et elles ne peuvent être analysées que par leurs effets ultérieurs, c'est-à-dire la formation de recombinants génétiques et, dans un croisement où l'induction zygotique se produit, la formation de centres infectieux.

A. — Les étapes de la formation des zygotes.

1) **Les collisions** entre bactéries de types sexuels opposés représentent nécessairement la première étape de la conjugaison. Ces collisions se font au hasard et il n'existe pas, apparemment, de facteurs spécifiques d'attraction entre les bactéries de types sexuels opposés. En effet, la vitesse de la conjugaison est, dans certaines limites, proportionnelle à la concentration des bactéries en présence (Nelson, 1951 ; Hayes, 1957). Avec une probabilité encore mal connue, les collisions permettent la formation d'appariements spécifiques ou plutôt de contacts efficaces, car ne sont reconnus comme tels que ceux d'entre eux qui sont suivis de transfert de matériel génétique.

2) **L'appariement spécifique** peut être distingué de l'étape précédente en diluant, à temps variable après leur mélange, les bactéries en voie de conjugaison. La dilution, qui diminue considérablement la fréquence des collisions, ne dissocie pas les appariements spécifiques.

La formation des contacts efficaces dépend, selon toute vraisemblance, de différences dans la structure et les propriétés de surface des bactéries de types sexuels opposés. Des différences de ce type entre bactéries F^+ et F^- ont été décrites (Maccacaro, 1955 ; Maccacaro et Comolli, 1956), et il semble exister des différences antigéniques entre bactéries Hfr et F^+ d'une part, bactéries F^- d'autre part (Le Minor et Le Minor, 1956). La constitution des appariements spécifiques, qui dépend, bien entendu, de la fréquence des collisions, dépend aussi de la température et de la

composition et du pH du milieu (Hayes, 1957 ; Fisher, 1957a). Elle ne se produit pas en l'absence d'une source d'énergie. Les appariements spécifiques présentent vraisemblablement un certain degré de réversibilité, car pour certaines concentrations de bactéries (de l'ordre de 10^9 /ml), la vitesse de la conjugaison atteint une valeur maximale qui n'augmente plus lorsqu'on élève la concentration bactérienne.

3) **Le transfert** de matériel génétique est l'étape essentielle de la formation des zygotes. Son mécanisme sera analysé dans le chapitre suivant. Nous nous bornerons ici à en rappeler les caractères principaux :

a) le transfert de matériel génétique se fait à *sens unique* des bactéries Hfr donatrices aux bactéries F^- réceptrices. Ceci est démontré, non seulement par l'effet différentiel de la streptomycine, mais également par l'induction zygotique qui ne se produit que dans les croisements entre bactéries lysogènes donatrices et bactéries réceptrices non lysogènes ;

b) seul le *matériel génétique* des bactéries donatrices semble être transféré au cours de la conjugaison. Si du cytoplasme est également transféré, ce ne peut être qu'en quantités minimales. En effet, le traitement des bactéries Hfr par la streptomycine est sans effet sur l'évolution des zygotes. D'autre part, on n'observe pas, au cours de la conjugaison, le transfert de phages à l'état végétatif (voir chap. VII) ni celui d'un enzyme tel que la β -galactosidase (Cohn, Jacob et Wollman, résultats inédits), des bactéries Hfr H aux bactéries F^- ;

c) le transfert est vraisemblablement *partiel* en ce sens que la grande majorité des zygotes ne recevraient qu'un segment chromosomique de la bactérie donatrice. Les arguments les plus solides en faveur de cette hypothèse proviennent de l'induction zygotique. Nous allons examiner les renseignements que l'on peut en obtenir sur la nature de l'apport des bactéries Hfr H à la constitution des zygotes.

B. — *Les hypothèses concernant la nature de l'apport génétique des bactéries donatrices aux zygotes.*

L'existence d'une polarité le long du groupe de liaison qui porte les caractères génétiques transmis des bactéries Hfr aux recombinants est la caractéristique essentielle des croisements à haute fréquence de recombinaison. Cette polarité, qui apparaissait dans les résultats des croisements entre bactéries non lysogènes (voir chap. V), se manifeste plus clairement encore dans les croisements où l'induction zygotique se produit. Deux groupes d'hypothèse, nous l'avons vu, ont été proposés

pour expliquer cette polarité génétique. On peut, à l'aide de quelques schémas simples, tels que ceux qui sont représentés sur la figure 14, tenter de préciser ces hypothèses, puis examiner dans quelle mesure elles sont compatibles avec les faits que nous avons rapportés.

1) **Hypothèse du transfert total** (fig. 14, schéma A). — On peut admettre, comme l'ont suggéré Lederberg (1955a) et Cavalli et Jinks (1956), que chaque zygote reçoit la totalité du chromosome de la bactérie donatrice. La polarité serait, dans ce cas, de nature purement génétique : ce serait une *polarité d'intégration*. L'inégale fréquence d'intégration de différents caractères génétiques pourrait être la conséquence d'un défaut d'appariement des chromosomes des deux parents suivi de l'élimination d'un segment chromosomique de la bactérie donatrice.

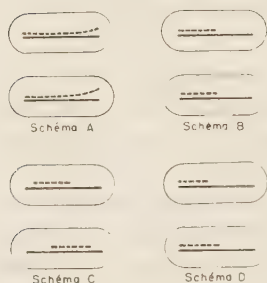


FIG. 14. — Représentation schématique des hypothèses concernant la formation des zygotes.

Pour chaque hypothèse, on a représenté deux zygotes pris au hasard dans le même croisement.

A : Transfert total, homogénéité des zygotes.

B : Transfert partiel, homogénéité des zygotes.

C : Transfert partiel, hétérogénéité des zygotes, pas de polarité.

D : Transfert partiel, hétérogénéité des zygotes, polarité.

2) **Hypothèse du transfert partiel**. — Selon cette hypothèse, les zygotes ne reçoivent pas la totalité, mais seulement un segment du chromosome de la bactérie donatrice. Différentes modalités doivent être cependant distinguées :

a) *Transfert partiel homogène*. — Tous les zygotes, ou la grande majorité d'entre eux, recevraient un groupe de liaison défini (fig. 14, schéma B). C'est l'hypothèse primitivement émise par Hayes (1953b) pour interpréter la différence entre haute et basse fréquence de recombinaison. La polarité observée le long du segment transmis à haute fréquence exigerait l'hypothèse supplémentaire d'une polarité d'intégration.

b) *Fragmentation au hasard* du chromosome de la bactérie donatrice (fig. 14, schéma C). Cette hypothèse a été formulée à l'origine par Clowes et Rowley (1954b) pour les croisements entre bactéries F^+ et F^- . Pour rendre compte de la polarité observée dans les croisements entre bactéries Hfr H et F^- , il faudrait admettre que les fragments formés aient des probabilités de transfert différentes.

c) *Transfert inégal orienté*. — Selon cette hypothèse, différents zygotes recevraient du type parental Hfr des segments chromosomiques de longueur inégale, mais ces segments auraient tous une même extrémité, O, ou origine (fig. 14, schéma D). La probabilité de transfert d'un caractère donné serait donc d'autant plus faible que ce caractère serait situé plus loin de l'origine O. La polarité génétique serait essentiellement le reflet de cette polarité du segment transféré.

Parmi les hypothèses qui viennent d'être considérées, il en est deux, celle du transfert partiel homogène et celle d'une fragmentation au hasard du chromosome de la bactérie Hfr, qui semblent peu compatibles avec les faits. Elles ne peuvent, en effet, rendre compte, à moins d'hypothèses supplémentaires, de la polarité que l'on observe le long du segment TL-Gal, qu'il s'agisse de la transmission des caractères génétiques du parent Hfr H aux recombinants, ou des taux d'induction zygotique de divers prophages inductibles. C'est donc à l'hypothèse du transfert inégal orienté que nous réserverons dorénavant l'expression de transfert partiel (fig. 14, schéma D).

Il convient, en effet, de préciser que la polarité du segment TL-Gal s'étend bien au-delà de ce dernier caractère comme on peut le démontrer lorsque l'on dispose d'autres caractères nutritionnels pouvant être utilisés pour la sélection de recombinants. La distinction entre caractères transmis à haute fréquence et caractères transmis à basse fréquence ne correspond donc pas à l'existence de deux segments distincts. Il existe, le long du groupe de liaison des bactéries Hfr H, un gradient continu dans les fréquences de transmission des caractères génétiques, de même qu'il existe un gradient dans les taux d'induction zygotique des prophages inductibles situés au-delà de Gal_b (Jacob et Wollman, 1958b).

L'hypothèse d'un transfert total avec polarité d'appariement (fig. 14, schéma A) fait, en réalité, appel à deux notions distinctes, la polarité d'appariement (ou d'intégration) et l'élimination obligatoire du segment chromosomique non apparié de la bactérie Hfr. La distinction entre ce modèle et celui du transfert partiel orienté repose en fait sur l'interprétation qu'il convient de donner du phénomène d'induction zygotique : induction due à l'appariement du chromosome Hfr, porteur du prophage, avec le chromosome de la bactérie F⁻ non lysogène, ou induction corrélative au transfert d'un prophage inductible à une bactérie réceptrice non immune. Les arguments dont nous disposons actuellement semblent plaider en faveur de cette dernière interprétation. C'est en admettant la validité de celle-ci que nous allons considérer les renseignements que nous apporte l'induction zygotique sur la nature des segments transférés aux zygotes au cours de la conjugaison.

C. — *L'hétérogénéité des zygotes formés dans un croisement entre bactéries Hfr H et bactéries F⁻.*

Selon l'hypothèse d'un transfert partiel orienté, différents zygotes reçoivent, du type parental Hfr H, des segments chromosomiques d'inégale longueur. On peut tenter d'estimer la proportion des zygotes qui, dans un croisement entre bactéries Hfr H et bactéries F⁻, ont reçu, des bactéries Hfr donatrices, des caractères tels que TL d'une part, et Gal, d'autre part.

Comparons à nouveau les résultats de croisements entre bactéries Hfr H(λ)⁺ $\times$ F⁻ P678(λ)⁺ et de croisements entre bactéries Hfr H(λ)⁺ et F⁻ P678(λ)⁻ (tableau XV). Dans ce dernier croisement, la destruction de plus de la moitié des zygotes a également réduit d'un peu plus de moitié le nombre de recombinants T⁺L⁺S^r. Donc plus de la moitié des zygotes ont reçu un segment — TL-Gal- λ — et ont été détruits. Un peu moins de la moitié des zygotes ont reçu un segment plus court et ont survécu (Wollman et Jacob, 1957). On peut ainsi distinguer deux classes, d'ailleurs hétérogènes, de zygotes : plus de 55 % d'entre eux ont reçu un segment plus long que — TL-Gal- λ — et moins de 45 % un segment plus court (parmi lesquels moins de 2 % ont reçu un segment — TL-Gal — ne comprenant pas λ). En comparant les recombinants T⁺L⁺S^r formés par la seconde classe de zygotes à la totalité des recombinants T⁺L⁺S^r formés dans le croisement témoin où l'induction zygotique ne se produit pas, on peut déterminer (en *pour-cent de la classe de zygotes considérée*) la constitution génétique des recombinants T⁺L⁺S^r formés par chaque classe de zygotes (tableau XVII). On voit que la constitution génétique de ces deux classes de recombinants est extrêmement différente : les recombinants T⁺L⁺S^r formés par les zygotes qui ont reçu la totalité du segment — TL-Gal- λ — héritent des caractères Az, T₁, Lac, Gal du type parental Hfr respectivement dans 96, 83, 72 et 54 % des cas, tandis que ceux qui sont issus de zygotes ayant reçu un segment plus petit que — TL-Gal- λ — n'héritent de ces caractères que dans respectivement 86, 60, 21 et 2,5 % des cas.

Au contraire, les recombinants Gal⁺S^r, qui tous proviennent de zygotes ayant reçu au moins le segment — TL-Gal —, ont la même constitution génétique, qu'ils soient formés par 60 % des zygotes, comme dans un croisement où l'induction zygotique ne se produit pas, ou par seulement 2 % des zygotes, comme dans un croisement où l'induction zygotique a lieu (tableau XVII).

On peut donc conclure que la polarité génétique du segment TL-Gal, que révélait l'analyse des recombinants formés dans un croisement

Hfr H(ly)⁻ × F⁻ (ly)⁻ par exemple (chap. V) exprime avant tout l'existence d'une hétérogénéité des zygotes qui serait elle-même la conséquence de la polarité des segments chromosomiques transférés par les bactéries Hfr H donatrices.

TABLEAU XVII

Hétérogénéité des zygotes.

Croisements	Classes recombinants	Pourcentage approximatif des zygotes correspondants	Constitution génétique des diverses classes de recombinants (en %)				
			T+L+	Az ^s	T ₁ ^s	Lac+	Gal _b +
Hfr(λ) ⁺ × P678(λ) ⁻	T+L+Sr Gal+Sr	42 2	100	86	60	21	2,5
			82	79	78	74	100
Hfr(λ) ⁺ × P678(λ) ⁺	T+L+Sr Gal+Sr	totalité (100)	100	90	70	47	29
		dont 42	100	86	60	21	2,5
		et 58	100	96	83	72	54
		totalité (60)	80	78	78	82	100

C'est à des considérations semblables que conduit l'analyse des croisements mettant en œuvre des bactéries Hfr H lysogènes pour différents prophages inductibles et des bactéries F⁻ non lysogènes (tableau XVI, chap. VII). D'une part, la proportion des zygotes ayant reçu un prophage donné (et partant les caractères qui lui sont liés) est d'autant plus faible que ce prophage est situé plus loin de TL sur le chromosome de la bactérie. D'autre part, le nombre de recombinants qui héritent d'un caractère situé loin de TL tel que Gal est d'autant plus grand que le prophage est situé plus loin de Gal, c'est-à-dire que le nombre de zygotes ayant reçu un segment — TL-Gal — ne portant pas le prophage est lui-même plus élevé.

En utilisant des caractères génétiques situés au-delà de Gal_b, tels que les caractères tryptophane (Tr) et histidine (H), et des prophages inductibles qui leur sont liés, on peut, de la même manière, déterminer la proportion des zygotes qui ont reçu du type parental Hfr des segments chromosomiques de longueur variable, mais plus étendus que — TL-Gal-λ (Jacob et Wollman, 1958b).

L'induction zygotique et les effets génétiques qu'elle provoque s'in-

interprètent le mieux dans l'hypothèse d'un transfert partiel orienté. En révélant l'hétérogénéité des zygotes formés dans un croisement, l'induction zygotique doit rendre possible l'analyse du processus de recombinaison génétique. Si l'on dispose de caractères liés à des prophages inducibles, on doit en effet pouvoir déterminer, pour chacun d'eux, la fréquence de son transfert puis sa liaison génétique à d'autres caractères, en ne tenant compte que des zygotes qui ont simultanément reçu les caractères dont on veut déterminer la liaison.

III. — LA FORMATION DES RECOMBINANTS GÉNÉTIQUES

A la suite du transfert de matériel génétique d'une bactérie donatrice à une bactérie réceptrice, un zygote est formé qui est constitué essentiellement par la bactérie réceptrice. Selon toute vraisemblance, il ne contient qu'un segment, de longueur variable, du chromosome de la bactérie donatrice. Il s'agit donc d'un zygote incomplet ou *mérozygote*. C'est dans ce mérozygote que s'accomplissent les phénomènes de recombinaison qui vont aboutir à la formation d'individus possédant des caractères héréditaires de chacun des types parentaux.

A. — *Les étapes de la formation des recombinauts génétiques.*

Dans cette seconde phase, proprement génétique, de la conjugaison bactérienne, on peut distinguer deux étapes principales :

1) *L'intégration génétique.* — On comprend, sous ce terme, l'ensemble des événements qui aboutissent à la formation d'un chromosome recombinant. Ce terme a été préféré à celui de recombinaison génétique, d'une part parce qu'il ne préjuge d'aucun mécanisme, et pour souligner d'autre part l'asymétrie du phénomène. Ce que l'on étudie, en effet, c'est l'éventuelle intégration de déterminants génétiques provenant du type parental donateur.

2) *La ségrégation des recombinauts.* — Les bactéries possédant plusieurs noyaux, un recombinant génétique est une bactérie haploïde dont tous les noyaux sont de type recombinant. Une telle bactérie sera constituée lorsque, par le jeu des divisions chromosomiques et bactériennes, une ségrégation se sera opérée entre le chromosome de type recombinant et les autres éléments nucléaires contenus dans le mérozygote. On peut déterminer le moment où cette ségrégation est achevée en suivant, en fonction du temps, l'évolution du nombre des recombinauts formés dans un croisement (voir fig. 8).

Des indications plus précises sont obtenues par l'étude cinétique des microclones formés sur milieu solide (Hayes, 1957) ou par des expériences de micromanipulation (Anderson et Mazé, 1957 ; Lederberg, 1957). Ces dernières expériences, dans lesquelles on examine toute la descendance d'un zygote, permettent de vérifier que, dans cette descendance, il n'apparaît jamais de bactéries ayant le génotype de la bactérie donatrice, ni en règle générale de bactéries ayant hérité de caractères qui ne sont transmis qu'à basse fréquence à des recombinants.

Il convient de signaler que la conjugaison bactérienne se prête tout particulièrement à l'étude quantitative de la ségrégation et de l'expression phénotypique des caractères génétiques bactériens. Les recherches de Hayes (1957) ont ainsi pu montrer combien différents étaient les délais d'expression de caractères tels que la résistance au nitrure de sodium et la résistance au bactériophage T_1 .

B. — *Le coefficient d'intégration des caractères génétiques transférés aux zygotes.*

Lorsqu'un déterminant génétique des bactéries donatrices a été transféré à un mérozygote, on peut rechercher quelle est la probabilité pour que ce déterminant soit transmis à un recombinant génétique. Ce coefficient d'intégration peut être évalué pour des caractères tels que TL et Gal_b , dont on connaît la fréquence de transfert des bactéries Hfr H aux zygotes (tableau XVII). C'est ainsi que dans un croisement entre bactéries Hfr $H(\lambda)^+$ et $F^- \text{P}678(\lambda)^+$, les caractères TL, qui semblent être transférés à la totalité des zygotes, ne sont hérités par des recombinants que dans un peu moins de 20 % des cas (tableau XV). Leur coefficient d'intégration serait donc d'environ $1/6$. Quant au caractère Gal_b , qui est transféré à environ 60 % des zygotes, il n'est transmis à des recombinants que dans moins de 5 % des conjugaisons, soit un coefficient d'intégration de l'ordre de $1/12$.

Ces résultats appellent une première remarque : lorsque des caractères du type parental Hfr ont été transférés aux zygotes, leur probabilité d'être ensuite transmis à un recombinant est relativement faible. Cette faiblesse relative du coefficient d'intégration est vraisemblablement la conséquence du caractère incomplet de l'apport génétique de la bactérie donatrice. Quant aux différences observées dans les fréquences d'intégration des caractères T^+L^+ d'une part, Gal_b^+ d'autre part, elles sembleraient indiquer l'existence d'une polarité d'intégration le long du segment — TL — Gal —. Comme les fréquences relatives de transfert et d'intégration n'ont pu encore être déterminées que pour ces caractères, on ne peut affirmer qu'il en est bien ainsi, car les différences observées

pourraient peut-être dépendre de la seule nature des caractères génétiques considérés.

La polarité génétique que l'on observe le long du segment — TL — Gal — pourrait donc résulter de la combinaison d'une polarité de transfert et d'une polarité d'intégration. Ainsi s'expliqueraient les différences de constitution génétique entre recombinants formés dans un croisement $Hfr\ H \times F^- P678$ selon que ces recombinants sont sélectionnés pour des caractères proximaux (TL) ou distaux (Gal) du segment — TL — Gal — (tableau XVII). L'analyse des premiers (recombinants $T^+L^+S^r$) permet de déterminer aisément l'ordre et la distance relative des caractères situés *au-delà* des caractères sélecteurs TL sur le segment orienté — TL — Gal —, car ces distances se trouvent amplifiées par la polarité du transfert. Au contraire, l'analyse des seconds (recombinants Gal^+S^r) qui tous proviennent de zygotes ayant reçu au moins un segment — TL — Gal — rend cette détermination beaucoup plus difficile. On notera également (tableau XVII) la différence de constitution génétique entre ces recombinants Gal^+S^r et les recombinants $T^+L^+S^r$ qui sont formés par la même classe de zygotes.

L'analyse qui précède n'a été donnée qu'à titre d'exemple et pour illustrer les notions de transfert et d'intégration telles qu'elles ont été définies au début de ce chapitre. Elle montre quel genre de renseignements on peut espérer obtenir d'une étude plus étendue de croisements mettant en œuvre, d'une part, des souches *Hfr* lysogènes pour des prophages inductibles et, d'autre part, des souches réceptrices marquées par des caractères génétiques auxquels ces prophages seraient liés. Cette étude est encore en cours. Il ne convient donc pas à l'heure actuelle d'attacher une trop grande importance aux valeurs numériques dont on peut disposer et d'en tirer des conclusions de génétique formelle. Il ne sera possible d'évaluer avec une certaine précision les distances génétiques réelles entre les caractères étudiés que lorsqu'on possédera des données quantitatives plus nombreuses et notamment lorsqu'on sera en mesure de déterminer les lois auxquelles obéissent la fréquence du transfert d'une part, et la fréquence de l'intégration d'autre part.



Les événements qui se succèdent lorsque des bactéries de types sexuels opposés sont mises en contact peuvent, grâce à l'induction zygotique, être saisis à deux niveaux différents : au niveau des zygotes et à celui des recombinants génétiques. On peut ainsi définir et, dans certains cas, déterminer expérimentalement, trois paramètres principaux de la conjugaison bactérienne : la fréquence de conjugaison, la fréquence de

transfert des caractères génétiques et le coefficient d'intégration génétique.

On peut ainsi démontrer que, dans un croisement à haute fréquence de recombinaison et, selon tout apparence, dans un croisement à basse fréquence de recombinaison aussi, la totalité des bactéries de types sexuels opposés s'apparient en un temps relativement court. Un transfert de matériel génétique s'opère de la bactérie donatrice à la bactérie réceptrice qui se trouve ainsi transformée en zygote. Le long du chromosome d'un type donné de bactérie donatrice (Hfr H), il existe une polarité telle qu'un caractère génétique a d'autant moins de chance d'être transféré qu'il est situé plus loin de l'une des extrémités — ou origine — du chromosome de cette bactérie. Les zygotes formés au cours de la conjugaison sont donc hétérogènes et diffèrent entre eux quant à l'apport génétique de la bactérie donatrice. Ce sont des zygotes incomplets ou *mérozygotes*. Dans ces mérozygotes, une recombinaison génétique peut se produire entre le segment chromosomique issu de la bactérie donatrice et le chromosome de la bactérie réceptrice. Ainsi se trouve formé un chromosome recombinant dont la ségrégation aboutit à la formation d'une bactérie de type recombinant.

La conjugaison bactérienne diffère donc des processus sexuels des autres organismes en ce que le zygote formé ne contient pas, en général, la totalité du génome de l'un des types parentaux. Cette particularité, qui est la cause essentielle des anomalies observées dans les résultats des croisements entre bactéries, est la conséquence, comme nous allons le voir maintenant, du processus même par lequel s'accomplit le transfert de matériel génétique au cours de la conjugaison.

CHAPITRE IX

LE MÉCANISME DU TRANSFERT DE MATÉRIEL GÉNÉTIQUE AU COURS DE LA CONJUGAISON

La conjugaison, telle que nous l'avons étudiée dans le système bactéries Hfr H $\times$ bactéries F⁻, se caractérise par le transfert à sens unique de matériel génétique et par l'inégale fréquence avec laquelle les caractères génétiques des bactéries donatrices peuvent être transmis à des recombinants. Cette polarité génétique, nous venons de le voir, semble être l'expression d'une polarité des segments chromosomiques transférés des bactéries Hfr H aux zygotes. Nous allons montrer maintenant que la polarité génétique est, en réalité, la conséquence directe de la polarité sexuelle.

I. — TRANSFERT GÉNÉTIQUE ET SEGMENTS GÉNÉTIQUES TRANSFÉRÉS

En comparant les résultats de divers types de croisements, nous avons tenté de déduire, des nombres de recombinants génétiques ou de centres infectieux formés, la nature de l'apport génétique du type parental Hfr. Ces méthodes de mesure, qui portent sur des événements qui se déroulent dans les zygotes, nous ont fourni des indications sur les segments génétiques transférés des bactéries donatrices aux zygotes, mais non sur le processus de transfert lui-même.

Les hypothèses concernant la nature des segments génétiques transférés ont été discutées dans le chapitre précédent et nous avons indiqué les arguments qui plaident en faveur de l'hypothèse selon laquelle ces segments génétiques seraient inégaux et orientés. On peut se demander si cette fragmentation du chromosome de la bactérie donatrice, que Lederberg et Cavalli situaient dans le zygote *après* le transfert, qui, selon l'hypothèse de Hayes, existait dans la bactérie donatrice *avant* le transfert, ne pourrait pas plutôt se produire *pendant* le transfert.

Parmi les étapes qui conduisent à la formation des zygotes, nous avons été amenés à reconnaître *a priori* trois étapes successives : les collisions, les appariements spécifiques et le transfert génétique lui-même. Si la dilution d'un mélange de bactéries en voie de conjugaison permet de distinguer les collisions des contacts efficaces déjà réalisés, nous n'avons pas encore été à même de distinguer les contacts efficaces du transfert génétique lui-même.

L'étude cinétique de la conjugaison nous a montré que les contacts efficaces entre bactéries de types sexuels opposés commencent dès que ces bactéries ont été mises en présence (fig. 13). On peut se demander si le transfert d'un déterminant génétique donné s'accomplit aussitôt après l'appariement spécifique ou s'il n'existerait pas un délai entre le moment où le contact efficace est constitué et celui où le déterminant génétique a été transféré au zygote. On sait qu'une fois le transfert génétique accompli, la suite des événements qui aboutiront à la formation soit d'un recombinant génétique, soit d'un centre infectieux, se déroule dans le zygote. La bactérie donatrice n'est donc plus nécessaire et peut être par conséquent éliminée.

Hayes fut le premier à étudier la cinétique de formation des zygotes en détruisant les bactéries Hfr H donatrices par un bactériophage virulent (Hayes, 1955, 1957). Dans un croisement entre bactéries Hfr H $T^+L^+M^-T_6^s$ et bactéries $F^-T^-L^-M^+T_6^r$ des prélèvements étaient faits à temps variables pendant la conjugaison et les échantillons prélevés étaient, soit étalés sur milieu minimum après dilution, soit traités par du bactériophage T_6 , puis dilués et étalés. A partir des échantillons *traités* par le phage, des recombinants $T^+L^+M^+$ n'étaient formés que lorsque le prélèvement avait été fait au moins dix minutes après le mélange. Le nombre des recombinants augmentait ensuite sensiblement de la même manière que sur la courbe de la figure 13 (recombinants $T^+L^+S^r$). Cette expérience semblait indiquer qu'il s'écoulait environ dix minutes entre le moment où les bactéries parentales étaient mises en présence et celui où les déterminants T^+L^+ étaient transférés aux zygotes. Cependant, avec les échantillons *non traités*, la cinétique d'apparition des recombinants $T^+L^+M^+$ n'était guère différente et il semblait également s'écouler un délai entre le moment auquel les bactéries avaient été mélangées et celui où commençaient à apparaître des recombinants.

Il nous a semblé qu'une méthode qui devrait permettre de distinguer la formation des zygotes des simples appariements spécifiques pourrait consister à séparer mécaniquement les bactéries en voie de conjugaison. Il devrait suffire pour cela de soumettre ces bactéries à une agitation

violente dans un mélangeur à ailettes ou « mixeur ». On sait que les bactéries, les *E. coli* en particulier, survivent à ce traitement (Anderson, 1949). On sait aussi que des bactéries infectées par un bactériophage résistent également à un tel traitement et demeurent capables de produire du phage. C'est par cette technique, en particulier, que Hershey et Chase (1952) ont pu démontrer qu'après l'infection par le bactériophage T₂, l'acide désoxyribonucléique du bactériophage était injecté dans la bactérie tandis que l'enveloppe protéique restait à l'extérieur et pouvait être détachée par l'agitation mécanique.

Nous avons vérifié, avec diverses souches, que des traitements d'une durée de 1 à 8 minutes, dans un appareil du type « Waring Blendor », placé dans la chambre froide à 4°, et tournant à vitesse maximum, ne diminuaient pas le nombre des bactéries capables de former une colonie (voir tableau XIX). Ces traitements ne réduisent pas non plus le nombre de plages de bactériophage λ formées par des bactéries sensibles infectées ou par des bactéries lysogènes induites. Dans la pratique, une agitation d'une durée de 2 minutes est amplement suffisante pour séparer les bactéries en voie de conjugaison. On peut ainsi suivre l'évolution du nombre des zygotes formés au cours de la conjugaison, que l'expression de ce phénomène soit la formation de recombinants génétiques ou la formation de centres infectieux dus à l'induction zygotique.

II. — LA CINÉTIQUE DU TRANSFERT GÉNÉTIQUE

A. — Étude cinétique

du transfert de différents caractères génétiques.

Dans un croisement $\text{Hfr } H(\lambda)^- \times F^-(\lambda)^-$ ou $\text{Hfr } H(\lambda)^+ \times F^-(\lambda)^+$, on peut suivre, en fonction du temps, le transfert aux zygotes des caractères T^+L^+ d'une part, Gal_b^+ d'autre part. Dans un croisement $\text{Hfr } H(\lambda)^+ \times F^-(\lambda)^-$, on peut suivre également le transfert du prophage λ . Les expériences sont faites dans les conditions habituelles des croisements (voir chapitres V et VI). Des prélèvements sont effectués à temps variables après le mélange des bactéries. Les échantillons prélevés sont dilués en tampon, puis étalés sur milieu convenable, soit directement, soit après traitement dans le « mixeur ». Après chaque opération, on prend soin de rincer et de refroidir, avec du tampon stérile glacé, le récipient métallique dans lequel a lieu l'agitation mécanique. La dilution a pour effet d'empêcher la formation de nouveaux appariements spécifiques. Le traitement dans le « mixeur » a pour but de dissocier les appariements déjà réalisés.

Les résultats d'expériences de ce type sont représentés sur la figure 15. Pour les échantillons non traités, les courbes qui représentent l'évolution du nombre des centres infectieux ou des recombinants sont identiques aux courbes de la figure 13 : elles passent toutes trois par l'ori-

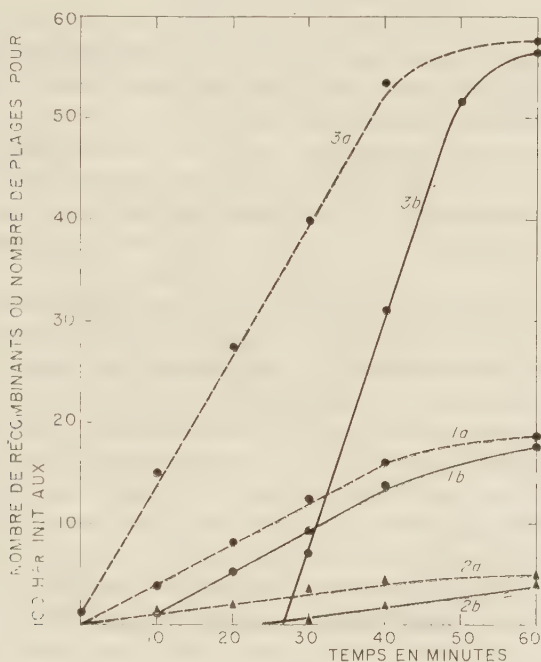


FIG. 15. — La cinétique du transfert génétique.

Les croisements sont les mêmes que ceux qui sont illustrés par la figure 13.

Croisement 1 : Hfr II(λ)+S^s $\times$ F⁻ P678(λ)+S^r.

Croisement 2 : Hfr II(λ)+S^s $\times$ F⁻ P678(λ)-S^r.

Les échantillons prélevés à temps variables sont, d'une part, étalés directement sur milieux sélectifs (lignes en pointillés), d'autre part, traités pendant 2 minutes dans un « mixeur » (Waring blender) avant l'étalement (lignes continues). En abscisse : le temps, en minutes, après le mélange initial. En ordonnée : le nombre des recombinants T+L+S^r (courbes 1a et 1b), et des recombinants Gal+S^r (courbes 2a et 2b) dans le croisement 1; le nombre des centres infectieux (courbes 3a et 3b) dans le croisement 2. Ces nombres sont rapportés au nombre initial de bactéries Hfr.

gine et forment un plateau à partir de la 50^e minute environ. Au contraire, les courbes qui correspondent aux échantillons traités dans le « mixeur » ont une allure très différente. Aucune d'elles ne s'extrapole à l'origine des axes de coordonnées. Mais, tandis que les premiers

recombinants $T^+L^+S^+$ commencent à apparaître dans les échantillons prélevés après 10 minutes de contact, aucun recombinant Gal^+S^+ dans un croisement $Hfr\ H(\lambda)^+ \times F^- P678(\lambda)^+$, aucun centre infectieux dans un croisement $Hfr\ H(\lambda)^+ \times F^- P678(\lambda)^-$, ne sont formés par les échantillons prélevés avant 25 minutes de contact.

Lorsque les centres infectieux ou les recombinants ont commencé à apparaître, leur nombre augmente ensuite régulièrement pour atteindre une valeur maxima identique à celle du plateau formé par la courbe qui correspond aux échantillons non traités. Il convient de noter que les premiers recombinants ayant acquis les caractères T^+L^+ des bactéries $Hfr\ H$ commencent à apparaître au même moment, que la conjugaison ait été interrompue par l'agitation mécanique ou que les bactéries $Hfr\ H$ aient été détruites par un bactériophage virulent (Hayes, 1957).

Ainsi, les courbes qui expriment la cinétique du transfert de divers déterminants génétiques diffèrent considérablement selon la nature des caractères des bactéries donatrices dont on étudie le transfert. Le moment auquel un déterminant génétique donné commence à pouvoir être décelé dans les zygotes ne dépend pas de l'expression de ce déterminant, mais de sa position sur le segment chromosomique $TL-Gal$. Des déterminants tels que TL d'une part, Gal_b d'autre part, dont l'expression nécessite toute la série d'événements qui aboutissent à la formation de recombinants génétiques, mais qui sont distants sur le segment $TL-Gal$, semblent être transférés aux zygotes à des temps très différents. Au contraire, des déterminants comme Gal_b d'une part et le prophage λ d'autre part, dont les modes d'expression diffèrent, mais qui sont proches l'un de l'autre sur le chromosome de la bactérie donatrice, semblent être transférés aux zygotes à des temps très voisins. Il existe donc une relation étroite entre le moment auquel un déterminant génétique donné est transféré d'une bactérie Hfr à une bactérie F^- et la position que ce déterminant occupe sur le chromosome de la bactérie Hfr . Le transfert est plus précoce pour les déterminants situés sur la partie proximale du segment $TL-Gal$ que pour ceux qui sont situés sur la partie distale de ce segment. En déterminant l'intersection avec l'axe des abscisses (fig. 15) des courbes qui expriment la cinétique de transfert aux zygotes des différents déterminants génétiques étudiés, on peut établir le moment auquel ces déterminants commencent à pénétrer dans les bactéries réceptrices. Pour les caractères TL , Gal_b et λ , ces temps sont respectivement de 9 minutes, 24 minutes et 26 minutes après le début de la conjugaison. On peut donc conclure que les caractères génétiques des bactéries $Hfr\ H$ pénètrent dans les bactéries F^- dans l'ordre même de leur disposition le long du segment $TL-Gal$. La polarité des segments chromo-

somiques transférés des bactéries Hfr H aux zygotes semble donc bien exprimer l'existence d'une polarité du processus de transfert (Wollman et Jacob, 1955, 1958b).

B. — *La polarité du transfert.*

Si ces conclusions sont exactes, on doit s'attendre à ce que dans un croisement $\text{Hfr H}(\lambda)^+ \times \text{F}^- \text{P678}(\lambda)^+$, la constitution génétique des recombinants $\text{T}^+\text{L}^+\text{S}^r$ formés diffère selon le temps qui se sera écoulé entre le mélange des bactéries Hfr et F^- , et le moment où des échantillons du mélange auront été prélevés et traités dans le « mixeur ». En particulier, les premiers recombinants $\text{T}^+\text{L}^+\text{S}^r$ formés ne devraient pas avoir reçu du type parental Hfr des caractères génétiques situés sur la partie distale du segment chromosomique — TL — Gal —. Au contraire, les recombinants $\text{T}^+\text{L}^+\text{S}^r$, formés à partir des mêmes échantillons non traités, devraient avoir une constitution génétique semblable quel que soit le moment du prélèvement, puisque les étapes qui s'étendent depuis la formation des contacts efficaces jusqu'à la constitution de recombinants génétiques peuvent se dérouler sans interruption.

C'est ce que vérifie l'analyse génétique des recombinants $\text{T}^+\text{L}^+\text{S}^r$, comme on peut le voir sur le tableau XVIII. Alors que la constitution génétique des recombinants obtenus à partir des échantillons non traités est relativement indépendante du temps auquel a été réalisé le prélèvement, celle des recombinants formés après agitation mécanique est très variable. Un caractère génétique situé sur le segment — TL — Gal — des bactéries Hfr H est d'autant plus représenté parmi les recombinants $\text{T}^+\text{L}^+\text{S}^r$ que le prélèvement a été réalisé plus tard.

Pour chacun des caractères génétiques analysés, on peut ainsi déterminer la cinétique de son apparition parmi les recombinants $\text{T}^+\text{L}^+\text{S}^r$. Cette représentation est illustrée par la figure 16 où l'on a porté la fréquence d'apparition, parmi 100 recombinants $\text{T}^+\text{L}^+\text{S}^r$ formés, des différents caractères génétiques issus du type parental Hfr H, en fonction du temps auquel les échantillons du mélange de bactéries ont été prélevés et soumis à l'agitation mécanique. On voit que chacun des caractères étudiés commence à apparaître parmi les recombinants $\text{T}^+\text{L}^+\text{S}^r$ à un moment défini. Le temps qui s'écoule entre le mélange des bactéries et le moment où un caractère donné commence à apparaître parmi les recombinants $\text{T}^+\text{L}^+\text{S}^r$ est d'autant plus court que ce caractère apparaît plus lié par les tests génétiques habituels aux caractères T^+L^+ sélectionnés. En prenant l'intersection avec l'axe des temps, des courbes qui représentent l'évolution de la proportion des recombinants $\text{T}^+\text{L}^+\text{S}^r$ qui ont hérité d'un caractère génétique donné, on peut déterminer le moment auquel

TABLEAU XVIII

*Orientation du transfert de caractères génétiques
au cours d'un croisement entre bactéries Hfr H S⁺ et F⁻ P678 S^r.*

Temps du prélèvement des échantillons en minutes	Constitution génétique des recombinants T ⁺ L ⁺ S ^r									
	Echantillons non traités					Echantillons traités				
	T ⁺ L ⁺	Az ^s	T ₁ ^s	Lac ⁺	Gal _b ⁺	T ⁺ L ⁺	Az ^s	T ₁ ^s	Lac ⁺	Gal _b ⁺
5	100	90	73	34	17	—	—	—	—	—
10	100	89	74	38	18	100	12	3	0	0
15	100	90	75	32	19	100	70	31	0	0
20	100	91	74	34	18	100	88	71	12	0
25	100	94	81	39	18	100	92	80	28	0,6
30	100	90	78	39	22	100	90	75	36	5
40	100	90	80	42	19	100	90	75	38	20
50	100	91	78	44	21	100	91	78	42	27
60	100	90	77	41	19	100	91	78	42	27

Le croisement est réalisé dans les conditions habituelles. A des temps divers, des échantillons sont prélevés et dilués; les étalements sur milieux sélectifs ont lieu, soit immédiatement, soit après traitement de 2 minutes dans un « Waring blender » placé à la chambre froide. A chacun des temps indiqués, 200 recombinants T⁺L⁺S^r ont été analysés.

ce caractère commence à apparaître parmi ces recombinants. C'est ainsi que le caractère Az^s commence à apparaître à 9 minutes, T₁ à 10 minutes, Lac à 18 minutes et Gal_b à 25 minutes environ. Une fois apparu, la fréquence avec laquelle un caractère se retrouve parmi les recombinants T⁺L⁺S^r augmente rapidement et rejoint asymptotiquement le niveau qui représente la fréquence avec laquelle ce caractère particulier se retrouve parmi les recombinants T⁺L⁺S^r formés par les échantillons non traités. Environ 50 minutes après le mélange des bactéries, les différents marqueurs issus du type parental Hfr H se retrouvent parmi les recombinants T⁺L⁺S^r avec leur fréquence habituelle.

Il apparaît donc clairement que les différents caractères génétiques du type parental Hfr commencent à apparaître dans le zygote selon un ordre déterminé. *Tout se passe comme si la pénétration du chromosome de la bactérie donatrice dans la bactérie réceptrice était un processus orienté.* Cette pénétration se ferait toujours par la même extrémité O

(ou origine du chromosome), suivie dans l'ordre par les caractères TL, Az, T_1 , Lac et Gal_b (Wollman et Jacob, 1955).

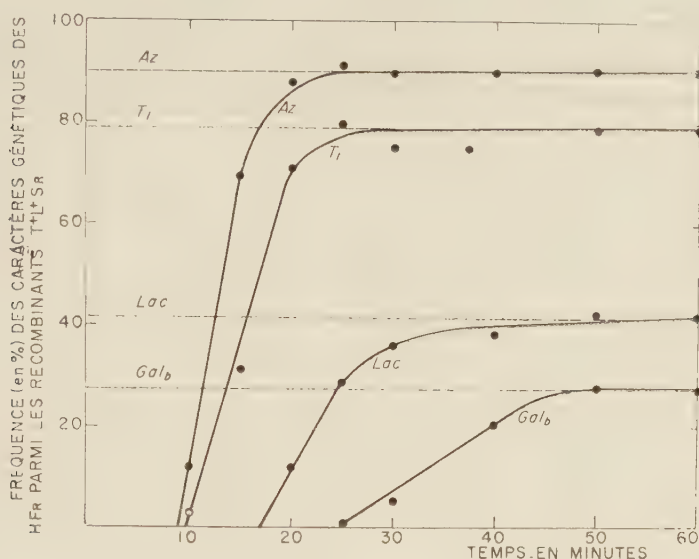


FIG. 16. — L'ordre de pénétration des caractères génétiques des bactéries Hfr H au cours de la conjugaison.

Dans un croisement entre bactéries Hfr H(λ)+S^s et bactéries F⁻ P678(λ)+S^r, les recombinants T+L+S^r formés à temps variables, soit après étalement direct (courbe 1a de la figure 15), soit après traitement dans un « mixeur » (courbe 1b de la figure 15) sont analysés quant à leur constitution génétique (voir tableau XVIII). En abscisse, le temps auquel les échantillons ont été prélevés. En ordonnée, la fréquence, parmi cent recombinants T+L+S^r, des différents caractères génétiques issus des bactéries Hfr. En pointillé, la constitution génétique des recombinants T+L+S^r formés par les échantillons non traités (courbe 1a, fig. 15); en trait plein, celle des mêmes recombinants formés par les échantillons traités (courbe 1b, fig. 15).

C. — Appariements spécifiques et transfert génétique.

Il apparaît, à l'examen de la figure 15, que les courbes qui expriment la cinétique de formation des zygotes (courbes 1b, 2b et 3b) ne sont pas parallèles aux courbes qui, dans la même expérience, expriment la cinétique de formation des contacts efficaces (courbes 1a, 2a et 3a). Comme il semble peu vraisemblable que la vitesse moyenne de progression du segment chromosomique O — TL — Gal puisse varier selon le moment où s'établissent les contacts efficaces, on est amené à conclure que la méthode qui a jusqu'ici été utilisée pour suivre la cinétique de forma-

tion des contacts efficaces n'est pas satisfaisante. Les courbes qui expriment la cinétique des appariements spécifiques devraient, en effet, partir de l'origine des axes de coordonnées et progresser parallèlement aux courbes qui expriment la cinétique de formation des zygotes. Il y a tout lieu de croire que la dilution des échantillons prélevés et, plus encore, l'étalement immédiat sur gélose additionnée de streptomycine ont pour

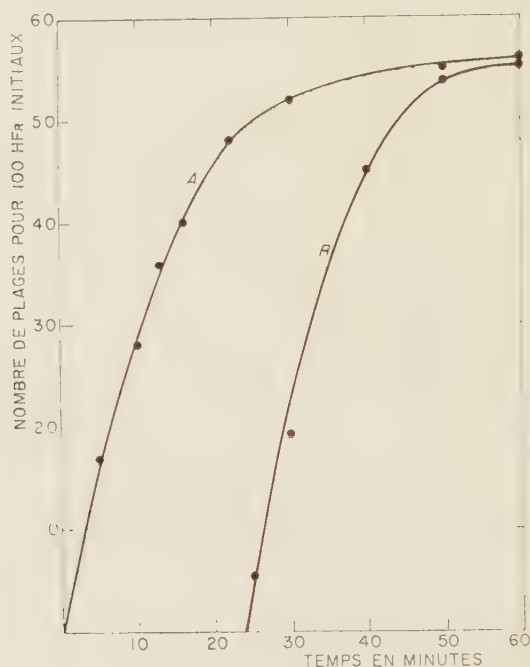


FIG. 17. — La cinétique des appariements spécifiques.

Des bactéries Hfr H(λ)⁺S^s et F⁻ P678(λ)-S^r sont mélangées dans les conditions habituelles d'un croisement (Hfr $2 \cdot 10^7$ /ml, F⁻ $4 \cdot 10^8$ /ml) et le mélange agité au bain-marie à 37°. Les échantillons prélevés à temps variables sont, d'une part, dilués avec précaution au millième dans du bouillon 1/10 et, d'autre part, traités dans un « mixeur ». Les échantillons traités sont immédiatement étalés en présence de bactéries 112 S^r sur milieu gélosé additionné de streptomycine (courbe B). Les échantillons non traités et dilués à 1/1 000 sont maintenus au bain-marie à 37° sans agitation, puis étalés 60 minutes après le début de l'expérience (courbe A).

conséquence la destruction d'une certaine fraction des appariements déjà constitués, ou même la rupture, dans une certaine fraction des cas, de segments chromosomiques en cours de transfert.

Si, en effet, au cours d'un croisement entre bactéries Hfr H(λ)⁺ et F⁻ P678(λ)⁻, les échantillons prélevés à temps variables ne sont plus

étalés immédiatement, mais dilués avec précaution en bouillon et maintenus à 37° pour n'être tous étalés que 60 minutes après le début de l'expérience, on constate que le nombre des centres infectieux dus à l'induction zygotique du prophage λ s'accroît plus rapidement que lorsque les étalements sont faits aussitôt après le prélèvement. La pente initiale de la courbe ainsi obtenue est sensiblement la même que celle de la courbe obtenue après interruption du processus de conjugaison par traitement dans le « mixeur » (fig. 17). On peut donc conclure que la totalité des bactéries qui sont susceptibles d'entrer en conjugaison se sont appariées en moins de 30 minutes (Wollman et Jacob, 1958b).

Les expériences qui viennent d'être rapportées permettent d'établir une distinction claire entre les étapes qui conduisent à la formation de zygotes. Elles permettent, en particulier, de distinguer la formation des appariements spécifiques du transfert de matériel génétique qui lui fait suite. On ne connaît pas, cependant, à l'heure actuelle, de conditions qui permettent la formation des appariements spécifiques tout en empêchant le transfert de s'accomplir. On ne sait pas, en particulier, obtenir des populations de bactéries entre lesquelles tous les appariements spécifiques seraient déjà réalisés sans que le transfert ait déjà lui-même commencé.

III. — LE MÉCANISME DU TRANSFERT GÉNÉTIQUE

A. — *Le transfert génétique, processus orienté.*

L'analyse cinétique du transfert, telle qu'elle a été rapportée dans la section précédente, démontre que différents déterminants génétiques des bactéries Hfr H pénètrent dans les bactéries réceptrices à des temps qui diffèrent d'un déterminant génétique à l'autre. Pour un déterminant génétique particulier, ce temps est caractéristique et ne dépend, dans des conditions expérimentales données, que de sa position sur le chromosome de la bactérie donatrice. On peut ainsi dresser, en unités de temps, une carte génétique du chromosome de la bactérie Hfr H (fig. 18).

Ainsi que nous l'avons indiqué, les caractères génétiques des bactéries Hfr H sont transmis à des recombinants avec des fréquences d'autant plus faibles que ces caractères sont moins liés à TL, c'est-à-dire plus distants de O. De même, des prophages inductibles sont d'autant moins transférés aux zygotes qu'ils sont situés plus loin de l'origine O du chromosome de la bactérie Hfr H. On peut démontrer de la même manière que les déterminants de ces caractères pénètrent d'autant plus tard dans les bactéries réceptrices qu'ils sont situés plus loin de O. On

a représenté sur la figure 18, les fréquences relatives de transmission aux recombinants $T^+L^+S^r$ et les temps de pénétration dans les bactéries F^- des différents caractères génétiques portés par le segment $O - TL - Gal_b -$ et de deux prophages inductibles situés au-delà de Gal_b (Wollman et Jacob, 1958b).

L'interprétation la plus simple de ces résultats est que, sitôt établis les appariements spécifiques, le chromosome de la bactérie donatrice commence à pénétrer dans la bactérie réceptrice. Cette pénétration se faisant toujours par la même extrémité O du chromosome $Hfr H$, les déterminants génétiques situés sur ce chromosome pénètrent également dans la bactérie réceptrice selon un ordre fixe et prédéterminé. L'agitation mécanique, qui sépare les bactéries en voie de conjugaison, a pour effet de rompre le pont qui les unit et le chromosome de la bactérie $Hfr H$ qui passe à travers ce pont. La progression du chromosome est suffisamment lente pour que pendant son parcours il puisse

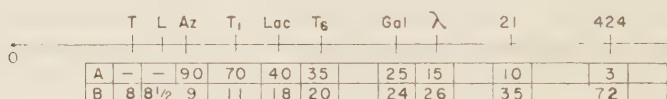


FIG. 18. — Le segment proximal du chromosome des bactéries $Hfr H$.

- A) Les fréquences avec lesquelles différents caractères des bactéries $Hfr H$ se retrouvent parmi cent recombinants $T^+L^+S^r$ formés dans des croisements $Hfr H \times F^- P678$.
 B) Les temps auxquels les déterminants génétiques de ces différents caractères commencent à pénétrer dans les bactéries réceptrices dans des expériences où la conjugaison est interrompue à temps variables par l'agitation mécanique. O est l'origine du chromosome, c'est-à-dire l'extrémité qui pénètre la première dans la bactérie F^- .

être à volonté rompu en un point quelconque de sa longueur. Si l'on admet que la progression du chromosome de la bactérie $Hfr H$ se fait à vitesse constante lorsque les conditions expérimentales sont elles-mêmes constantes, on est en droit de conclure que le temps qui s'écoule entre la pénétration de deux déterminants génétiques donnés est une mesure de la distance physique qui sépare ces deux déterminants (Wollman et Jacob, 1958b).

La pénétration du segment $O - TL - Gal -$ occupe 25 minutes environ et il y a de bonnes raisons pour penser que ce segment représente environ le quart de la longueur totale du chromosome. L'étude quantitative du transfert offre donc un moyen à la fois commode et précis de déterminer l'ordre et les distances relatives des déterminants génétiques bactériens.

Au cours de la lente progression du chromosome de la bactérie dona-

trice; on conçoit que des ruptures spontanées puissent se produire. Un caractère génétique aura donc d'autant moins de chances d'être transféré qu'il est situé plus loin de l'origine du chromosome. Ceci explique que la totalité du chromosome de la bactérie Hfr H ne puisse qu'exceptionnellement être transférée au cours de la conjugaison et que les caractères situés loin de TL soient, par conséquent, transmis à basse fréquence à des recombinants. On comprend également que l'induction zygotique d'un prophage tel que λ et l'interruption de la conjugaison immédiatement avant la pénétration éventuelle d'un tel prophage doivent avoir le même effet sur la constitution génétique des recombinants $T^+L^+S^+$ formés. C'est ce qui ressort de la comparaison des tableaux XVII et XVIII. On voit que les fréquences avec lesquelles apparaissent les différents caractères génétiques du segment O — TL — Gal — sont sensiblement les mêmes parmi les recombinants $T^+L^+S^+$ formés dans un croisement Hfr H(λ)⁺ $\times$ F⁻ P678(λ)⁻ (tableau XVII) et parmi les recombinants $T^+L^+S^+$ formés dans un croisement Hfr H(λ)⁺ $\times$ F⁻ P678(λ)⁺ lorsque la conjugaison a été interrompue à 25 minutes (tableau XVIII).

Les résultats concernant la cinétique du transfert génétique ont été confirmés par les travaux de Hayes et de Fisher d'une part, par ceux de Skaar et Garen d'autre part.

Comme l'a montré Hayes (1955), on peut interrompre la conjugaison, à temps variables après le mélange des bactéries, en détruisant les bactéries Hfr H par un bactériophage virulent. Si l'on détermine la constitution génétique des recombinants qui ont reçu les caractères T^+L^+ du type parental Hfr H, on constate que les autres caractères génétiques de ces bactéries commencent à apparaître parmi les recombinants formés exactement de la même manière que lorsque la conjugaison était interrompue par l'agitation mécanique (Hayes, 1957). Pour que le transfert puisse s'accomplir, les bactéries donatrices doivent disposer d'une source d'énergie. On peut donc arrêter le transfert génétique, soit en abaissant suffisamment la température, soit en ajoutant un inhibiteur métabolique, tel que le 2-4-dinitrophénol (Fisher, 1957*b*). En abaissant la température de 37° à 32°, on réduit de moitié la vitesse du transfert génétique : la pénétration des caractères TL a lieu à 18 minutes au lieu de 8 minutes, celle de Lac à 38 minutes au lieu de 17 (Hayes, 1957).

Des techniques aussi différentes que l'interruption mécanique de la conjugaison et la destruction des bactéries donatrices fournissant des résultats en tous points comparables, il semble raisonnable de conclure que le transfert génétique s'accomplit bien selon le mécanisme décrit ci-dessus (Wollman, Jacob et Hayes, 1956).

Quant aux expériences de Skaar et Garen (1956), elles ont été faites, non pas avec la souche Hfr H de Hayes, mais avec la souche Hfr C de Cavalli. Les auteurs ont utilisé la même technique que Hayes : à temps

variables au cours de la conjugaison, les bactéries Hfr C sont détruites par le phage virulent T₆. Cependant, au lieu de sélectionner des recombinants, Skaar et Garen étalent les échantillons traités sur un milieu complet additionné de lactose et d'un indicateur coloré. Sur ce milieu, les zygotes qui sont capables de donner naissance à des recombinants Lac⁺ forment des colonies mixtes qui contiennent à la fois des bactéries ayant le génotype Lac⁻ des bactéries réceptrices et des recombinants Lac⁺. La constitution génétique de ces recombinants varie en fonction du temps du prélèvement, mais l'ordre dans lequel les caractères génétiques des bactéries Hfr C pénètrent dans les zygotes (Lac T₁ L) est l'inverse de celui que l'on observe dans le cas des bactéries Hfr H.

B. — *Le processus du transfert génétique et son interruption.*

L'interprétation que nous avons donnée ci-dessus du mécanisme par lequel s'accomplit le transfert génétique au cours de la conjugaison semble être la plus simple que l'on puisse proposer pour expliquer les résultats de l'étude cinétique de la formation des zygotes. Elle permet, en outre, de mettre en harmonie l'ensemble des faits qui ont été exposés dans les chapitres précédents.

Cette interprétation a cependant soulevé quelques objections que nous allons examiner brièvement. Certaines ont trait au mécanisme même de l'interruption de la conjugaison par des moyens mécaniques. D'autres portent plutôt sur la justification qu'il y aurait à étendre au processus normal du transfert les conclusions tirées des expériences dans lesquelles on interrompt la conjugaison.

Nous avons déjà rappelé à plusieurs reprises la conception de Lederberg selon laquelle le transfert du chromosome de la bactérie donatrice serait total et l'élimination de segments chromosomiques secondaire. Selon Lederberg (1955 b), l'agitation mécanique pourrait avoir pour effet de provoquer des anomalies dans l'appariement des chromosomes des deux types parentaux. Outre qu'un tel mécanisme apparaît comme étant peu vraisemblable, il ne saurait être invoqué dans le cas où la conjugaison est interrompue par un bactériophage virulent qui n'agit exclusivement que sur les bactéries Hfr donatrices. Selon Lederberg également, si l'interruption de la conjugaison aboutissait réellement à la formation de zygotes incomplets, cela ne ferait que souligner qu'en l'absence de traitement c'est la totalité du chromosome de la bactérie donatrice qui participe à la formation des zygotes. Cette conclusion semble peu justifiée. Elle a déjà été suffisamment discutée pour qu'il soit utile d'y revenir ici.

Selon Skaar et Garen (1956), l'interruption de la conjugaison pourrait ne pas avoir pour effet de rompre le chromosome de la bactérie donatrice, mais plutôt de réaliser une sélection parmi les recombinants. La fragmentation du chromosome de la bactérie Hfr préexisterait donc à son transfert. C'est une des hypothèses que nous avons considérées au début de ce chapitre. Elle ne peut être discutée avec profit sans avoir été précisée.

Étant donné ce que nous savons des segments chromosomiques transférés aux zygotes (voir chapitre VIII), les fragments de chromosomes des bactéries Hfr H devraient avoir les mêmes propriétés : ils devraient être inégaux et avoir tous la même extrémité O. Il faudrait, par conséquent, expliquer le mécanisme par lequel s'accomplit cette fragmentation particulière du chromosome de la bactérie Hfr. Le transfert de ces segments ne saurait différer de celui que nous avons suggéré pour la totalité du chromosome si l'on veut rendre compte de l'ordre de pénétration des différents caractères génétiques des bactéries Hfr H. Si, en effet, chaque segment était transféré tout d'une pièce, la polarité du transfert ne s'observerait pas.

Une hypothèse de ce type n'est donc pas très différente de l'hypothèse plus générale que nous avons proposée, mais elle se heurte à des difficultés beaucoup plus considérables.

Supposons, cependant, que cette hypothèse soit exacte : le transfert des différents segments serait progressif. Un segment court serait transféré plus vite qu'un segment long. Le rôle de l'agitation mécanique (ou du traitement par le phage) serait de sélectionner ceux des zygotes ayant reçu la totalité du segment issu du type parental Hfr, les autres zygotes étant détruits par le traitement. En fonction du temps, le nombre des zygotes viables augmenterait, en même temps que la longueur des segments chromosomiques dont le transfert serait achevé.

On peut démontrer qu'il n'en est pas ainsi. Soit, en effet, un croisement entre bactéries Hfr HS^s et bactéries F⁻ P678 S^r dans lequel ce sont les bactéries Hfr H qui sont en excès par rapport aux bactéries réceptrices (rapport Hfr/F⁻ = 20/1). On sait que 25 minutes après le mélange, la quasi-totalité des appariements spécifiques est déjà réalisée (voir fig. 17) et que la moitié environ des zygotes capables de donner naissance à des recombinants T⁺L⁺S^r sont formés (fig. 15). Selon l'hypothèse d'une fragmentation chromosomique préalable à la conjugaison, ces zygotes auraient reçu des segments plus courts que O — TL — Gal —. L'autre moitié des zygotes, qui recevraient un segment au moins égal à TL — Gal si la conjugaison n'était pas interrompue, devraient donc être détruits par le traitement dans le « mixeur ». Des échantillons du mélange de bactéries en voie de conjugaison sont donc étalés à temps variables sur milieu GN additionné de streptomycine. Sur ce milieu

peuvent se développer les bactéries F^- ou les zygotes. Si l'hypothèse mentionnée était exacte, on devrait observer une diminution considérable du nombre de colonies formées lorsque l'agitation mécanique est appliquée à 25-30 minutes. A 60 minutes, au contraire, le transfert de tous les caractères situés sur le segment TL — Gal étant achevé, ce nombre devrait être beaucoup plus élevé. Les résultats d'une telle expérience sont rapportés sur le tableau XIX où l'on voit que le nombre des bactéries réceptrices capables de former une colonie reste sensiblement constant tout au long de la conjugaison, que celle-ci ait ou n'ait pas été interrompue par agitation mécanique. On trouvera également sur le tableau XIX les résultats obtenus dans un croisement semblable, mais où ce sont les bactéries Hfr H qui sont en minorité. Comme on peut le voir, le nombre des bactéries Hfr reste sensiblement constant pendant toute la durée de la conjugaison et n'est pas affecté par le traitement dans le mixeur. Ainsi, pas plus la conjugaison que la rupture du pont

TABLEAU XIX

*Numération des bactéries des types parentaux
au cours de croisements entre bactéries Hfr(λ)⁺ et P678(λ)⁺.*

Temps de prélèvement en minutes	Nombre de colonies pour 0,1 ml de la dilution 10^{-4} du mélange			
	Sur milieu GS glucosé dans un croisement 1 Hfr H $\times$ 20 F^-		Sur milieu GO + streptomycine dans un croisement 1 F^- $\times$ 20 Hfr H	
	Sans agitation mécanique	Après agitation mécanique	Sans agitation mécanique	Après agitation mécanique
0	146	132	120	133
10	151	141	136	122
20	151	163	112	105
30	167	159	110	112
40	159	147	122	117
50	162	158	128	121
60	166	163	132	130

Les croisements sont réalisés dans les conditions habituelles mais, dans un cas, ce sont les bactéries Hfr qui sont en minorité, dans l'autre, ce sont les bactéries F^- P678. A des temps variables, des étalements sont réalisés en triple sur milieu GS glucosé (bactéries Hfr) ou sur milieu GO à la streptomycine (bactéries P678 et zygotes). Les nombres indiqués représentent la moyenne du nombre de colonies formées sur les trois boîtes.

qui unit les bactéries pendant cette conjugaison n'ont d'effet sur la viabilité des bactéries parentales.

L'hypothèse selon laquelle le traitement mécanique aurait une action directe sur le transfert se trouve encore renforcée par l'expérience suivante. On sait que dans un croisement entre bactéries $Hfr\ H(\lambda)^+$ et $F^- P678(\lambda)^-$, l'induction zygotique, qui détruit plus de la moitié des zygotes, réduit dans les mêmes proportions le nombre des recombinants $T^+L^+S^r$ formés par rapport à un croisement témoin $Hfr\ H(\lambda)^+ \times F^- P678(\lambda)^+$ où l'induction zygotique ne se produit pas. Si le traitement mécanique a pour effet d'interrompre le transfert du chromosome des bactéries donatrices, on doit s'attendre à ce que la cinétique de formation des zygotes capables de donner naissance à des recombinants $T^+L^+S^r$ soit identique dans les deux croisements à condition que la conjugaison soit interrompue avant 25 minutes, moment où le caractère Gal_b et le prophage λ qui lui est lié commencent à pénétrer dans les bactéries réceptrices. C'est, en effet, ce que l'on observe comme l'indiquent les résultats rapportés sur le tableau XX.

TABLEAU XX

*Cinétique de la formation de recombinants $T^+L^+S^r$
dans des croisements entre bactéries $Hfr\ H$ lysogènes
et bactéries $F^- P678$ lysogènes ou non lysogènes.*

Temps de prélèvement en minutes	Fréquence des recombinants $T^+L^+S^r$			
	Croisement $Hfr(\lambda)^+ \times F^-(\lambda)^+$		Croisement $Hfr(\lambda)^+ \times F^-(\lambda)^-$	
	Echantillons non traités	Echantillons traités	Echantillons non traités	Echantillons traités
5	2,5	0	2,3	0
10	5,3	0,49	5,8	0,3
15	8,6	5,3	8,3	3,9
20	11,7	10,6	7,5	10
25	12,9	11,3	7,2	9,6
30	13,8	13,5	6,5	8,4
40	15,6	14,2	6,2	7,3
50	16,7	14,8	6,7	6,5
60	17,4	16,8	6,8	6,7

Les croisements sont réalisés dans les conditions habituelles. A des temps variables, les échantillons prélevés sont étalés sur milieu sélectif (recombinants $T^+L^+S^r$), soit immédiatement après dilution, soit après avoir été traités pendant deux minutes dans un « Waring blender » placé à la chambre froide.

Dans le croisement témoin, l'évolution du nombre de recombinants $T^+L^+S^+$ se fait de la même manière que dans l'expérience illustrée par la figure 15 : les recombinants formés par les échantillons traités commencent à apparaître vers la dixième minute et leur nombre augmente ensuite régulièrement.

Dans le croisement où se produit l'induction zygotique, le nombre des recombinants formés par les échantillons non traités évolue, ainsi qu'il a été indiqué (chapitre VII) de manière irrégulière : un maximum est atteint à 15 minutes, puis ce nombre diminue légèrement. Pour les échantillons traités, l'évolution du nombre des recombinants est, jusqu'à 20-25 minutes, très semblable à celle qu'on observe dans le croisement témoin. A 25 minutes, *ce nombre est même supérieur à celui que forment les mêmes échantillons non traités*. A partir de 25 minutes, au contraire, le nombre des recombinants diminue jusqu'à 50 minutes environ.

L'interprétation de ces résultats est la suivante. Dans le croisement où l'induction zygotique se produit, le nombre de recombinants formés par les échantillons traités s'accroît normalement jusqu'au moment où le prophage λ pénètre dans les zygotes : en effet, des zygotes sont sauvés qui auraient été détruits par le développement du prophage λ si le chromosome n'avait été rompu avant que ce prophage ait pu pénétrer. A partir de 25 minutes, au contraire, une fraction de plus en plus importante des zygotes reçoit le prophage λ et est détruite. La situation est encore plus complexe dans le cas des échantillons non traités, l'étalement précoce ayant vraisemblablement pour effet d'interrompre le transfert du prophage λ à une certaine fraction des zygotes (voir fig. 15 et 17).

*
* *

Les résultats qui ont été rapportés dans ce chapitre s'harmonisent tous dans la conception d'un *transfert* orienté du chromosome des bactéries donatrices aux bactéries réceptrices. Cette conception très simple permet, d'autre part, d'interpréter l'ensemble des faits qui ont été relatés au cours de cet exposé. Nous avons, en effet, été amenés à distinguer toute une série de polarités successives qui toutes, manifestement, devaient être le reflet d'une polarité unique.

Polarité sexuelle qui exprimait le transfert à sens unique du matériel génétique des bactéries Hfr H aux bactéries F^- .

Polarité génétique qui se manifestait d'abord par le fait que certains caractères génétiques étaient transmis à haute fréquence à des recombinants alors que d'autres caractères n'étaient transmis qu'à basse fréquence.

Polarité du segment TL — Gal ensuite, puisque, même parmi les caractères qui étaient transmis à fréquence élevée, certains l'étaient plus que d'autres.

Polarité des segments transférés enfin puisque des prophages inductibles étaient transférés à une fraction des zygotes seulement et d'autant moins qu'ils étaient situés plus loin sur le segment TL — Gal.

L'orientation du processus même de transfert du matériel génétique au cours de la conjugaison suffit à elle seule à expliquer l'existence de ces différentes polarités.

La conjugaison entre bactéries a pour conséquence la formation d'un pont qui unit les bactéries de types sexuels opposés. L'une des extrémités, O, du chromosome de la bactérie donatrice, toujours la même, pénètre dans la bactérie réceptrice. Au cours de la lente progression du chromosome à travers le pont interbactérien, des ruptures spontanées peuvent se produire. Un caractère génétique donné a donc d'autant moins de chances d'être transféré à un zygote qu'il est situé plus loin de l'origine du chromosome. A partir d'une certaine distance de cette origine, la probabilité pour qu'une rupture se soit produite *avant* que les caractères distaux aient pu être transférés devient si grande que ce n'est qu'exceptionnellement que ces caractères seront hérités par un recombinant. Nous avons arbitrairement choisi d'appeler caractères transmis à basse fréquence ceux qui sont transmis dans moins de 1 % des cas à des recombinants $T^+L^+S^r$. Ainsi, les zygotes formés sont-ils, dans leur grande majorité, incomplets, et diffèrent-ils les uns des autres par la longueur du segment transféré.

Le mécanisme même du transfert génétique au cours de la conjugaison bactérienne réalise des conditions exceptionnellement favorables à l'étude des relations entre les déterminants génétiques et la structure qui les porte, c'est-à-dire le chromosome bactérien. Il offre, en effet, la possibilité de déterminer les distances qui séparent deux déterminants génétiques donnés, d'une part par des méthodes génétiques, d'autre part par des méthodes physiques.

Par l'analyse génétique, on peut mesurer des liaisons génétiques en *unités de recombinaison*. Pour que ces mesures ne soient pas déformées par la polarité du transfert, il convient de ne tenir compte que des zygotes ayant reçu des segments chromosomiques identiques du type parental Hfr. Cette analyse ne pourra être faite que lorsqu'on sera à même de déterminer, dans une population donnée de zygotes, la distribution des segments chromosomiques transférés.

Une seconde méthode consiste à mesurer la distance entre déterminants génétiques en *unités de temps*, par des expériences d'interruption de la conjugaison telles que celles qui viennent d'être décrites. Si la progression du chromosome de la bactérie donatrice a lieu à vitesse

constante dans la région où cette mesure est faite, on peut obtenir par cette méthode une mesure de la distance physique qui sépare les déterminants génétiques portés par le segment considéré.

Enfin, une troisième méthode, dans le détail de laquelle nous ne pouvons pas entrer, consiste à mesurer cette distance en *nombre d'atomes de phosphore* contenus dans l'A.D.N. de la bactérie donatrice (Fuerst, Jacob et Wollman, 1957). Les résultats fournis par ces deux dernières méthodes sont remarquablement concordants. Ils permettent de conclure que, dans le premier tiers de sa longueur, la progression du chromosome de la bactérie donatrice se fait à vitesse constante et que, par conséquent, les temps qui séparent la pénétration de deux déterminants génétiques donnés sont proportionnels aux distances qui séparent ces déterminants.

CHAPITRE X

DISCUSSION

Les recherches qui ont fait l'objet du présent exposé ont porté, d'une part, sur le mécanisme de la conjugaison bactérienne et, d'autre part, sur le déterminisme génétique de la lysogénie. Comme nous l'avions laissé prévoir au début de ce travail, les acquisitions dans ces deux domaines ont évolué de pair et leur exposé ne pouvait de ce fait être dissocié. Si l'étude des croisements bactériens a permis, en effet, de résoudre le problème génétique de la lysogénie, les renseignements apportés par cette étude ont contribué pour une large part à notre connaissance du mécanisme de la conjugaison bactérienne.

Nous nous proposons, dans ce chapitre, d'examiner certaines conséquences qui découlent de ces deux ordres de recherche. Dans une première partie, nous verrons comment on peut étendre à d'autres aspects de la conjugaison bactérienne les notions que les croisements entre bactéries Hfr H et bactéries F⁻ ont permis de dégager. Dans une seconde partie, on tentera de rapprocher les différents mécanismes de transfert génétique chez les bactéries. Enfin, dans une troisième partie seront considérés quelques problèmes soulevés par la localisation chromosomique des prophages.

I. — CONJUGAISON ET RECOMBINAISON GÉNÉTIQUE CHEZ E. COLI K12

Au cours de l'étude du système constitué par les bactéries Hfr H donatrices et les bactéries F⁻ réceptrices, nous avons été amenés à définir et à analyser les différentes étapes de la conjugaison. Nous pouvons nous demander dans quelle mesure le schéma auquel nous sommes arrivés peut être appliqué à l'ensemble des faits connus concernant la recombinaison génétique chez les bactéries et, en particulier, aux croisements à basse fréquence de recombinaison entre bactéries F⁺ et bactéries F⁻.

A. — *Le mécanisme de la basse fréquence de recombinaison.*

Selon ce schéma, une basse fréquence de recombinaison pourrait en principe être due soit à la rareté des conjugaisons, c'est-à-dire des appariements spécifiques, soit à une basse fréquence du transfert, soit à une basse fréquence de l'intégration. C'est ainsi que, dans les croisements entre bactéries Hfr H et F^- , la faible fréquence avec laquelle certains caractères génétiques des bactéries donatrices sont transmis à des recombinants est avant tout la conséquence de la rareté de leur transfert aux zygotes.

Dans le cas des croisements entre bactéries F^+ et F^- , il ne semble pas que la basse fréquence de recombinaison puisse être attribuée à une basse fréquence de conjugaison. Comme nous l'avons indiqué en effet (voir chapitre VIII), le caractère sexuel F^+ est transmis à haute fréquence dans les croisements et l'examen de mélanges de bactéries F^+ et F^- au microscope électronique montre que les figures de conjugaison présentent les mêmes caractères et sont, en apparence, aussi fréquentes que dans les croisements Hfr H $\times$ F^- (voir planche IV). D'autre part, aucun des prophages inducibles étudiés n'est induit à haute fréquence dans les croisements entre bactéries F^+ lysogènes et bactéries F^- non lysogènes. Il y a donc tout lieu de penser que le chromosome ou le segment chromosomique qui porte la quasi-totalité des caractères génétiques d'*E. coli* K12 n'est pas transféré dans l'immense majorité des conjugaisons entre bactéries F^+ et F^- et que, par conséquent, *la basse fréquence de recombinaison qui s'y observe est le fait d'une basse fréquence de transfert.*

Certaines propriétés héréditaires des bactéries F^+ sont cependant transmises à haute fréquence à des bactéries F^- . C'est le cas du facteur sexuel F et aussi de la propriété de produire certaines substances antibiotiques appelées colicines (Frédéricq et Betz-Bareau, 1953). On peut démontrer, par des expériences d'interruption de la conjugaison telles que celles qui ont été décrites dans le chapitre précédent, que le transfert des déterminants génétiques de ces propriétés est extrêmement précoce puisqu'il se fait dans les cinq premières minutes de la conjugaison (Jacob et Wollman, 1955a et résultats inédits). L'hypothèse a été émise que les déterminants génétiques des caractères transférés à haute fréquence par les bactéries F^+ , en particulier ceux de la colicinogénie (Frédéricq, 1955b) pourraient être cytoplasmiques. On peut imaginer également, par analogie avec ce qui s'observe dans le cas des bactéries Hfr H, que ces déterminants pourraient être situés sur un segment chromosomique particulier OR', limité par un point de rupture R' (Jacob et Wollman, 1955a).

Les autres caractères génétiques des bactéries F^+ sont tous transmis à basse fréquence à des recombinants et ils le sont tous avec des probabilités sensiblement égales. Cependant, lorsqu'un recombinant génétique est formé, il ne possède en général qu'un petit nombre de caractères du type parental F^+ (voir chapitre IV). La question se pose donc de l'origine de ces recombinants.

Il se pourrait que chaque bactérie d'une population F^+ puisse, avec une faible probabilité, transférer un caractère génétique donné au cours de la conjugaison. Il se pourrait, au contraire, qu'une faible fraction de la population puisse transférer ce caractère avec une probabilité relativement élevée. La première hypothèse suppose donc que la population de bactéries F^+ est *homogène* quant à son pouvoir de former des recombinants génétiques. La seconde hypothèse suppose que cette population est *hétérogène* et que les recombinants formés dans un croisement $F^+ \times F^-$ pourraient être le fait de rares mutants Hfr.

Cette dernière hypothèse est vérifiée par l'expérience (Jacob et Wollman, 1956c). On peut, d'une part, démontrer, par une adaptation du test de fluctuation statistique introduit par Luria et Delbrück (1943) pour établir le caractère spontané des mutations bactériennes, que les recombinants formés dans un croisement $F^+ \times F^-$ sont le fait de rares mutants Hfr présents dans la population de bactéries F^+ . On peut, d'autre part, grâce à la méthode de sélection indirecte décrite par Lederberg et Lederberg (1952), isoler, chaque fois qu'on le désire, les mutants Hfr responsables de la formation des recombinants génétiques (Jacob et Wollman, 1956c). En faisant varier les caractères génétiques que l'on utilise pour la sélection de recombinants dans un croisement $F^+ \times F^-$ donné, on peut ainsi isoler une variété de mutants Hfr qui diffèrent entre eux par les caractères génétiques qu'ils sont capables de transmettre à haute fréquence.

Ces observations expliquent, pour une large part, les difficultés rencontrées dans l'analyse génétique des croisements entre bactéries F^+ et bactéries F^- . Une population de bactéries F^+ peut, en effet, être considérée comme comprenant une majorité de bactéries F^+ , incapables de transférer les déterminants génétiques généralement utilisés pour la sélection de recombinants, et une faible proportion de divers types de mutants Hfr. Les zygotes formés constituent eux aussi une population hautement hétérogène et les résultats obtenus dans un croisement dépendront donc des proportions relatives des différents types de mutants Hfr présents dans la population de bactéries F^+ . On peut également prévoir des variations dans les résultats de croisements mettant en œuvre des souches F^+ différentes, car il est vraisemblable que différentes souches F^+ diffèrent par leur « spectre de mutabilité » Hfr.

B. — Les mutants Hfr et leurs propriétés génétiques.

Divers types de mutants Hfr diffèrent les uns des autres, non seulement par la nature des caractères génétiques qu'ils sont capables de transmettre à haute fréquence à des recombinants, mais aussi par l'ordre dans lequel ces caractères sont transférés. Comme nous l'avons vu dans le chapitre précédent, les bactéries Hfr H transfèrent dans l'ordre les caractères TL, Az, T₁, Lac, Gal_b; les bactéries Hfr C transfèrent dans l'ordre les caractères T₁, Az, L, T. Quant au caractère Gal₂ (voisin de Gal_b), il n'est transmis qu'à basse fréquence des bactéries Hfr C à des recombinants (Cavalli et Jinks, 1956).

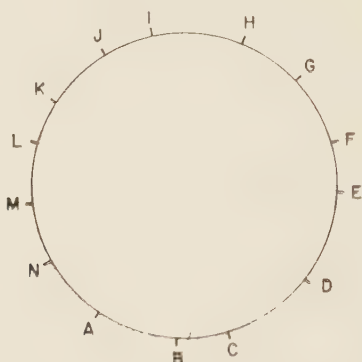


FIG. 19. — Représentation schématique du groupe de liaison d'E. coli K12.

Un caractère génétique tel que B est toujours lié d'un côté à A et de l'autre côté à C, à moins que l'origine O ne soit venue s'insérer entre A et B ou entre B et C comme dans des Hfr de séquence O B C D E F... ou O B A N M L..., par exemple.

On peut ainsi déterminer, pour toute une variété de mutants Hfr, la séquence des caractères qu'ils sont capables de transférer à haute fréquence. Lorsqu'on compare les résultats ainsi obtenus, on constate que les liaisons entre caractères génétiques demeurent inchangées, sauf en ce qui concerne les caractères qui, pour un type de Hfr donné, se trouvent liés à l'origine O. C'est ainsi que le caractère Lac, qui dans Hfr H était lié à T₁ d'un côté et à Gal de l'autre devient, dans Hfr C lié à O d'un côté tout en restant lié à T₁ de l'autre côté. Par delà la diversité des types de mutants Hfr, il semble donc exister un *ordre univoque dans lequel peuvent être disposés les différents caractères génétiques d'E. coli K12* (Jacob et Wollman, 1957b). Si l'on tente de dresser une carte génétique de l'ensemble de ces caractères, on est donc conduit à les disposer le long d'une courbe fermée, une circonférence par exemple (fig. 19). Alors que le groupe de liaison d'un type particulier de Hfr

peut être représenté par une ligne interrompue dont l'une des extrémités est l'origine O caractéristique de ce type, il n'existe en effet aucune raison pour interrompre en un point quelconque le groupe de liaison déduit de l'ensemble des Hfr. Dans cette représentation circulaire, le groupe de liaison d'un type particulier de Hfr peut être obtenu en ouvrant, en un point déterminé, la courbe fermée, et en insérant l'origine O à l'une des extrémités formées. On définit ainsi à la fois la nature du segment génétique transféré à haute fréquence et l'ordre de transfert des caractères portés par ce segment. Comme les différents types de Hfr proviennent, par mutation, de bactéries F^+ , on peut imaginer que la représentation circulaire obtenue par juxtaposition des segments transmis à haute fréquence par ces différents Hfr pourrait correspondre au groupe de liaison des bactéries F^+ (Jacob et Wollman, 1957b).

C. — *La différenciation sexuelle et son déterminisme.*

La conjugaison chez *E. coli* se produit entre bactéries de types sexuels opposés qui, pour la commodité de l'expression, sont appelées donatrices et réceptrices. Ces types sexuels ne peuvent, à l'heure actuelle, être mieux définis et distingués qu'en énumérant les propriétés des bactéries donatrices dont les bactéries réceptrices semblent être dépourvues (Wollman, Jacob et Hayes, 1956). Ces propriétés, qui semblent être communes aux différents types de bactéries Hfr et aux bactéries F^+ sont les suivantes :

1) *Une configuration de surface* qui leur permet d'établir des appariements spécifiques avec des bactéries F^- réceptrices, ou même avec d'autres bactéries donatrices devenues phénotypiquement réceptrices. La nature des structures en cause est encore inconnue, mais il ne semble pas exister de différences dans la spécificité de surface de différents types de bactéries donatrices de la souche K12 d'*E. coli* : toutes, en effet, semblent capables de s'apparier à des bactéries F^- avec la même efficacité.

2) *Le pouvoir de transférer du matériel génétique* aux bactéries réceptrices. Différents types de bactéries Hfr, cependant, se distinguent les uns des autres et des bactéries F^+ par la nature de leur apport génétique dans la conjugaison. On peut faire remarquer que la distinction entre bactéries Hfr d'une part, bactéries F^+ d'autre part, perdrait de sa signification si l'on se bornait à ne tenir compte que de la « fertilité » de ces souches, c'est-à-dire de leur fréquence de conjugaison avec des bactéries F^- et de leur capacité à transmettre à celles-ci des caractères héréditaires. Ces souches ont, en effet, la même fréquence de conjugaison. Elles sont, les unes et les autres, capables de former

certaines recombinaisons génétiques à haute fréquence, alors que d'autres recombinaisons génétiques ne sont formées qu'à basse fréquence. Quelle que soit la nature des déterminants génétiques transmis à haute fréquence par les bactéries F^+ , les bactéries réceptrices qui ont acquis ces caractères génétiques sont, en fait, des recombinaisons génétiques formées à haute fréquence.

Cependant, la distinction entre bactéries Hfr et bactéries F^+ mérite de subsister car les bactéries F^+ sont les seules qui transmettent à haute fréquence et presque exclusivement le caractère sexuel donneur.

3) **Le pouvoir de muter** d'un type donneur à l'autre, ou du type donneur au type récepteur. La mutation du type F^- aux types F^+ ou Hfr n'a jamais été décrite. La mutation $F^+ \rightarrow F^-$, au contraire, a été fréquemment observée et des mutations $F^+ \rightarrow$ Hfr ont pu être décelées chaque fois qu'elles ont été recherchées. Il semble, en particulier, que les recombinaisons formées à basse fréquence dans les croisements $F^+ \times F^-$ soient exclusivement le fait de mutants Hfr présents dans la population de bactéries F^+ . Inversement, des mutations Hfr $\rightarrow F^+$ se produisent aussi. On ne sait pas encore si des mutations Hfr $\rightarrow F^-$ ou Hfr₁ $\rightarrow$ Hfr₂... peuvent survenir directement ou, si elles ne peuvent se produire qu'en deux étapes, avec un stade F^+ intermédiaire.

La différenciation sexuelle est sous la dépendance d'un facteur héréditaire particulier, le facteur F (voir chapitre IV). Par son hérédité, par le mécanisme de sa transmission dans les croisements, le facteur F a les propriétés d'un déterminant génétique. Ce déterminant génétique, cependant, semble doué de propriétés particulières. Tout d'abord, lorsque le caractère donneur est perdu par mutation, il semble que cette perte soit irréversible. C'est cette propriété, beaucoup plus que le fait qu'il soit transmis à haute fréquence des bactéries F^+ aux bactéries F^- , qui justifierait, dans une certaine mesure, l'opinion selon laquelle il s'agirait d'un élément surajouté, de l'acquisition d'une propriété nouvelle.

Les bactéries F^+ transfèrent à haute fréquence le facteur F mais aucun autre des caractères génétiques que l'on est à même de localiser sur le groupe de liaison d'*E. coli* K12. Les bactéries réceptrices auxquelles ce facteur a été transféré deviennent F^+ et jamais Hfr. Lorsque des bactéries F^+ mutent vers la forme Hfr, ces mutants Hfr deviennent capables de transférer à haute fréquence une variété de caractères génétiques, mais non le caractère donneur lui-même : les recombinaisons formées à haute fréquence sont F^- . Ce n'est que parmi les recombinaisons ayant hérité de caractères transmis à basse fréquence que l'on peut en retrouver qui soient Hfr (Hayes, 1953b ; Cavalli et Jinks, 1956). On ne connaît pas, à l'heure actuelle, de bactéries donatrices qui soient capa-

bles de transférer à haute fréquence à la fois un segment chromosomique assez étendu et le caractère donateur lui-même (Wollman, Jacob et Hayes, 1956).

Ainsi, un seul événement, la mutation $F^+ \rightarrow Hfr$, détermine à la fois la nature du segment chromosomique transféré — c'est-à-dire la position de l'origine O du groupe de liaison linéaire de cet Hfr — et la nouvelle position du déterminant génétique du caractère donateur. Tout se passe comme si celui-ci se trouvait dorénavant lié aux caractères génétiques qui sont les plus distants de l'origine O. C'est ce qui a pu être vérifié dans chacun des cas étudiés (Jacob et Wollman, 1957b).

L'hypothèse la plus simple, pour rendre compte de ces faits, c'est qu'une mutation $F^+ \rightarrow Hfr$ comporterait un événement unique : l'insertion du facteur sexuel en un point donné du groupe de liaison circulaire (fig. 19). Cette insertion aurait pour conséquence l'ouverture de la courbe fermée, dont l'une des extrémités porterait désormais le facteur sexuel, tandis que l'autre extrémité deviendrait l'origine O du groupe de liaison linéaire ainsi formé.

Par ses propriétés, le déterminant sexuel des bactéries évoque les « éléments de contrôle » dont l'existence est postulée par Mc Clintock (1956) pour interpréter certains phénomènes observés chez le maïs. Dans l'un et l'autre cas, en effet, la position de l'élément déterminerait un certain type de rupture chromosomique.

II. — LA MÉROMIXIE

La conjugaison bactérienne, qui comporte un appariement spécifique entre bactéries appartenant à des types sexuels différents, est donc bien l'équivalent des processus sexuels tels qu'ils existent chez des organismes plus évolués. Comme ces types sexuels sont fonctionnellement différents, on est fondé à assimiler les bactéries donatrices à des mâles et les bactéries réceptrices à des femelles.

Cependant, contrairement à ce qu'on observe chez les autres organismes, la conjugaison bactérienne donne lieu, dans la grande majorité des cas, à la formation de zygotes incomplets, de *mérozygotes*. Elle se rapproche donc, par ce caractère, des autres modes de transfert de caractères génétiques qui ont été décrits brièvement dans le chapitre II et qui tous aboutissent à la formation de zygotes essentiellement constitués par la bactérie réceptrice et par un segment seulement du matériel génétique de la bactérie donatrice. C'est pourquoi il nous semble utile de réunir sous le terme de *méromixie* (de μέρος : partie et μίξις : mélange) les processus de transfert génétique qui ont pour résultat la formation de zygotes incomplets.

A. — *Les mécanismes de transfert génétique chez les bactéries.*

Outre la conjugaison, les mécanismes par lesquels peut s'accomplir le transfert de caractères génétiques chez les bactéries sont, comme nous l'avons indiqué, la transduction et la transformation. Dans les trois cas, du matériel génétique est transféré de bactéries donatrices à bactéries réceptrices.

Dans la *conjugaison*, ce transfert fait suite à l'appariement des bactéries de sexe opposé et la rupture du chromosome de la bactérie donatrice s'accomplit pendant son transfert.

Dans la *transduction*, le transfert est réalisé grâce à un bactériophage tempéré qui joue le rôle d'un agent vecteur. C'est le développement du bactériophage dans la bactérie donatrice qui provoque la rupture du chromosome de cette bactérie, les fragments ainsi formés étant incorporés dans le phage au moment de sa maturation.

Dans la *transformation*, enfin, la fragmentation du chromosome de la bactérie donatrice est obtenue par l'expérimentation qui extrait l'A.D.N. spécifique du chromosome bactérien.

Les étapes qui conduisent à la formation des mérozygotes sont formellement les mêmes dans les trois modes de méromixie. Elles comportent successivement la rencontre des éléments en présence, puis la fixation, sur la bactérie réceptrice, de la bactérie donatrice, du phage transducteur, ou de l'A.D.N. spécifique, et enfin la pénétration dans la bactérie réceptrice du matériel génétique issu de la bactérie donatrice. Chacun de ces mécanismes de transfert génétique pose des problèmes qui lui sont particuliers, mais, surtout, chacun d'eux semble être à même d'apporter sa définition propre dans l'étude des problèmes de la génétique bactérienne. Si la conjugaison permet, en effet, l'établissement de cartes génétiques et l'étude de segments chromosomiques d'une certaine étendue, la transduction semble mieux se prêter à l'étude de la structure fine de courts segments chromosomiques, tandis que la transformation devrait permettre de pousser cette analyse jusqu'à l'échelon moléculaire.

La possibilité qu'il y a, chez certaines bactéries telles que les *Escherichia* et les *Shigella*, d'utiliser conjointement la conjugaison et la transduction doit, en particulier, rendre de grands services dans l'étude de nombreux problèmes.

B. — *Le problème de la recombinaison génétique.*

Quelles que soient les modalités du transfert, les problèmes soulevés par le mécanisme de la recombinaison génétique dans un mérozygote sont analogues dans les trois modes de méromixie. En effet, dans les trois cas, la recombinaison génétique s'accomplit entre le chromosome intact de la bactérie réceptrice et un fragment, qui peut être très court, de matériel génétique issu de la bactérie donatrice. Ces problèmes ont été discutés dans le cas de la transformation (Éphrussi-Taylor, 1955 ; Hotchkiss, 1956), de la transduction (Demerec, 1955, 1956 ; Lederberg, 1955a) et de la conjugaison (Jacob et Wollman, 1955a ; Wollman, Jacob et Hayes, 1956).

On sait, en particulier, pour la transduction comme pour la conjugaison, que les caractères génétiques transférés ne sont pas dans tous les cas intégrés. On sait aussi que les caractères portés par le segment transféré ne sont pas intégrés simultanément et qu'un processus analogue au « crossing-over » doit donc se produire. Lorsqu'il s'agit de segments chromosomiques incomplets, un modèle faisant intervenir un simple mécanisme de rupture et réunion des structures préexistantes aboutirait dans une fraction élevée des cas à la formation de chromosomes incomplets, c'est-à-dire à la formation de produits non viables. Il existe des raisons de penser que le mécanisme de l'intégration génétique chez les bactéries ne serait pas un simple mécanisme de rupture et de réunion des structures parentales.

La recombinaison génétique chez les bactériophages a posé des problèmes semblables. Les faits observés ont conduit à émettre l'hypothèse que les recombinants génétiques seraient formés au cours de la répllication de l'A.D.N. spécifique. Ils seraient donc constitués de structures nouvelles qui se synthétiseraient pour partie sur le modèle d'une des structures parentales et pour partie sur le modèle de l'autre structure parentale (Levinthal, 1954). Des arguments en faveur de cette hypothèse sont fournis, en particulier, par des expériences où l'un des phages parentaux est soumis, avant le croisement, à de faibles doses de lumière ultraviolette. Ce traitement, qui a pour effet d'accroître la fréquence de recombinaison chez les bactériophages, augmente aussi la distance génétique apparente entre des caractères génétiques voisins. Ainsi, la probabilité d'intégration simultanée de deux caractères génétiquement liés est considérablement réduite par le traitement, alors que la probabilité d'intégration de chaque déterminant génétique particulier n'est pratiquement pas affectée (Jacob et Wollman, 1955b). L'interprétation la plus plausible de ces résultats, c'est que les lésions provoquées par la lumière ultraviolette ont pour effet de ralentir ou d'em-

pêcher la réplication du « chromosome » des particules irradiées. De courtes répliques segmentaires se trouvent ainsi formées qui sont secondairement incorporées lors de la réplication du type phagique non traité.

Des expériences analogues peuvent être faites chez les bactéries. Il convient de signaler à ce propos que le mécanisme de la conjugaison bactérienne offre la possibilité de distinguer les effets physiologiques et les effets génétiques d'un traitement particulier. Si, par exemple, on soumet des bactéries donatrices à l'action de la lumière ultraviolette, on peut, en croisant immédiatement ces bactéries avec des bactéries F^- , étudier les effets de l'irradiation sur le processus de recombinaison génétique, indépendamment des effets que ce même traitement aura pu avoir sur les processus métaboliques des bactéries traitées. On constate ainsi que, chez les bactéries et chez les bactériophages, l'irradiation par la lumière ultraviolette a des conséquences génétiques tout à fait comparables. Ce traitement, qui est sans action sur le processus de transfert génétique, a pour effet d'augmenter considérablement les distances apparentes entre caractères génétiquement liés (Jacob et Wollman, 1955a).

Des effets génétiques analogues sont observés lorsque des bactéries Hfr H, dont l'A.D.N. a été marqué par le radiophosphore ^{32}P , sont croisées avec des bactéries F^- non radioactives, et que l'on permet à la désintégration du ^{32}P de se produire *dans le zygote avant que la recombinaison génétique n'ait eu lieu* (Fuerst, Jacob et Wollman, 1959). Au contraire, lorsque la désintégration du ^{32}P se produit *dans les bactéries donatrices avant la conjugaison*, c'est le processus de transfert qui est affecté, et cette méthode permet, ainsi qu'il a été mentionné à la fin du chapitre précédent, de mesurer les distances qui séparent les déterminants génétiques en nombre d'atomes de phosphore (Fuerst, Jacob et Wollman, 1957).

L'interprétation la plus simple de ces résultats est que, chez les bactéries comme chez les bactériophages, la recombinaison génétique se fait lors de la réplication des structures parentales. Les lésions provoquées, soit par le rayonnement ultraviolet, soit par la désintégration du radiophosphore, introduiraient des solutions de continuité dans la réplication du segment chromosomique issu de la bactérie donatrice, mais les répliques segmentaires formées pourraient être indépendamment incorporées lors de la réplication du chromosome de la bactérie réceptrice.

III. — LA LYSOGÉNIE, CARACTÈRE LÉTAL POTENTIEL

L'un des apports les plus remarquables de la conjugaison bactérienne, à la fois à la génétique et à la virologie, est l'analyse qu'elle a permis de faire du déterminisme de la lysogénie. Les bactéries lysogènes sont,

en effet, l'exemple le plus clair et le mieux connu d'une association héréditaire entre un virus et son hôte. Elles constituent de ce fait un modèle extrêmement utile pour l'étude d'un domaine important et particulièrement mal connu de la virologie, celui des infections latentes à virus.

A. — *Le prophage comme modèle de provirus.*

Ainsi que nous l'avons indiqué (voir chapitre II et fig. 2), le bactériophage peut exister sous trois états distincts et parfaitement définis : l'état infectieux, l'état végétatif et l'état prophage. A l'état de prophage, il se comporte comme un constituant cellulaire normal et se perpétue indéfiniment en étroite coordination avec le matériel génétique de la bactérie-hôte. Les croisements entre bactéries lysogènes ont apporté la démonstration qu'un prophage donné occupe une position définie sur le chromosome de la bactérie-hôte et qu'à chaque prophage correspond un locus chromosomique spécifique (chapitre VI). Chez les bactéries lysogènes, le matériel génétique du virus et celui de l'hôte sont donc intégrés, le chromosome bactérien et les prophages qu'il porte constituant une unité de reproduction.

L'étroite association qui, chez les bactéries lysogènes, existe entre le prophage et son locus chromosomique spécifique, est illustrée par les récents travaux de Morse, Lederberg et Lederberg (1956a et b) et de Weiglé (1957). Le prophage λ , ainsi qu'il a été indiqué, est étroitement lié à une série de loci qui gouvernent l'utilisation du galactose. Lorsque des bactéries $K12(\lambda)^+Gal^+$ sont soumises à l'action de la lumière ultraviolette, le développement du prophage λ est induit et une faible fraction des particules infectieuses produites contiennent le déterminant Gal^+ . Lorsque ces particules infectent des bactéries sensibles Gal^- , elles peuvent, en effet, donner naissance à de nouveaux systèmes lysogènes qui ont acquis simultanément le prophage λ et le caractère Gal^+ auquel il est lié, à l'exclusion de tous autres caractères génétiques des bactéries donatrices. Les bactéries lysogènes obtenues par lysogénisation des bactéries $K12(\lambda)^-Gal^-$ par des phages $\lambda - Gal^+$ ne sont pas des recombinants génétiques, mais des *hétérogénètes*, car elles sont capables de ségréger des bactéries Gal^+ et des bactéries Gal^- . Lorsque ces hétérogénètes sont à leur tour induits, la grande majorité des phages λ produits contiennent le déterminant Gal^+ . Ainsi, l'association entre le matériel génétique du phage et le locus auquel il est lié s'est maintenue tout au long du cycle de lysogénisation (Morse, Lederberg et Lederberg, 1956a et b).

Comme a pu le démontrer Weiglé (1957), le matériel génétique du phage et le déterminant génétique bactérien se sont multipliés ensemble

au cours des différentes phases de ce cycle. Si, en effet, on infecte des bactéries sensibles avec des phages provenant d'hétérogénètes, le calcul montre que le déterminant Gal^+ se multiplie avec le phage au cours de la phase végétative. Ainsi, si, chez les bactéries lysogènes, le matériel génétique du virus se comporte comme un déterminant génétique bactérien, dans ce cas c'est un déterminant génétique bactérien qui, au cours de la multiplication d'un virus, se comporte comme un déterminant génétique de ce virus.

B. — *Les infections latentes à virus.*

On connaît un grand nombre d'exemples d'infections latentes à virus, que ce soit chez les vertébrés, les insectes ou les plantes (voir Jacob, 1954 ; L'Héritier, 1955). Dans la plupart des cas, on ignore la forme sous laquelle le virus est maintenu dans l'organisme infecté et la nature des relations qui existent entre le virus et les cellules de l'hôte. Il est probable que lorsqu'un nombre suffisant de cas auront été analysés, il apparaîtra que les infections latentes à virus englobent les situations les plus diverses. Aussi convient-il d'être extrêmement prudent avant d'établir un rapprochement entre l'un de ces cas et celui des bactéries lysogènes et d'attribuer une infection latente à la présence d'un provirus. Il existe cependant un cas qui, par bien des aspects, rappelle celui de la lysogénie : c'est la sensibilité héréditaire de la drosophile au gaz carbonique qui a fait l'objet des travaux de L'Héritier et de ses collaborateurs (voir L'Héritier, 1954, 1955).

Certaines lignées de drosophiles sont héréditairement sensibles à l'action du gaz carbonique, parce qu'elles perpétuent héréditairement le pouvoir de produire le virus σ , responsable de cette sensibilité. Ce virus peut être injecté à des mouches indemnes, résistantes au gaz carbonique : il s'y multiplie, mais les mouches ainsi infectées ne transmettent qu'occasionnellement le virus à leur descendance. Celles des mouches qui ont ainsi acquis la sensibilité au CO_2 ne la transmettent à leur tour à leur descendance que de manière irrégulière.

On peut ainsi distinguer deux situations très différentes. Dans la première, les femelles transmettent régulièrement la sensibilité au CO_2 à toute leur descendance : elles sont dites *stabilisées*. Dans la seconde, les femelles ne transmettent qu'occasionnellement la sensibilité au CO_2 , et encore ceux de leurs descendants qui ont acquis cette sensibilité ont-ils les propriétés d'individus infectés et non d'individus stabilisés : ces lignées sont dites *non stabilisées*.

Les drosophiles de lignées stabilisées et les drosophiles de lignées non stabilisées produisent le même virus σ , quoiqu'en quantités différentes.

On peut, en effet, extraire davantage de virus des mouches non stabilisées que des mouches stabilisées. Les différences qui existent entre ces deux lignées semblent donc correspondre, non pas à des différences dans la nature du virus qu'elles produisent, mais dans les relations entre le virus et l'hôte. Alors que les mouches non stabilisées ont tous les caractères d'individus infectés par un virus, chez les mouches stabilisées il s'est établi une association stable entre le virus et l'hôte. On peut, par conséquent, comparer les lignées stabilisées à des souches de bactéries lysogènes avec lesquelles elles ont de nombreuses propriétés communes (faible taux de production spontanée, immunité). Les lignées non stabilisées, au contraire, peuvent être assimilées à une population de bactéries sensibles infectées par un bactériophage tempéré.

L'hérédité du caractère stabilisé a toutes les propriétés de l'hérédité maternelle, et le cas de la sensibilité héréditaire des drosophiles au CO_2 a été longtemps un exemple classique d'hérédité cytoplasmique avant même que n'ait été découvert le virus qui la détermine. En effet, les croisements réciproques entre drosophiles stabilisées (sensibles au CO_2) et drosophiles indemnes de virus (résistantes au CO_2) ne donnent pas les mêmes résultats. Dans les croisements entre femelles stabilisées et mâles indemnes, tous les produits du croisement ont les caractères des individus de lignées stabilisées. Dans les croisements entre mâles stabilisés et femelles indemnes, une partie de la descendance est résistante au CO_2 , donc indemne, l'autre partie, sensible au CO_2 , ayant les caractères des individus de lignées non stabilisées. La sensibilité au CO_2 et la résistance au CO_2 étant l'une et l'autre héritées par voie maternelle, il a été conclu que, quelle que soit la forme sous laquelle le virus est perpétué dans les lignées stabilisées, ce virus est cytoplasmique.

Si l'on doit admettre que chez les drosophiles sensibles au gaz carbonique, comme chez les bactéries lysogènes, c'est sous la forme d'un provirus qu'est perpétué le pouvoir héréditaire de produire du virus, il est remarquable que l'analyse génétique de ces deux situations ait conduit à des conclusions opposées.

C. — *Induction zygotique et hérédité maternelle.*

La conjugaison bactérienne (si l'on fait abstraction de particularités telles que la contribution inégale des deux parents à la constitution du zygote) a tous les caractères d'un processus sexuel. La bactérie Hfr donatrice peut être assimilée à un gamète mâle qui ne fournit au zygote que son matériel génétique, la bactérie F^- réceptrice à un gamète femelle qui devient zygote à la suite de la fécondation. Dans un croisement entre bactéries lysogènes (pour λ par exemple) et bactéries non lysogènes, le

caractère lysogène n'est transmis à la descendance que lorsqu'il est porté par la bactérie réceptrice. Lorsque c'est la bactérie donatrice qui est lysogène, le caractère lysogène n'est jamais transmis à la descendance. Plus encore, si l'on ne considère que ceux des zygotes qui ont reçu le prophage λ , ces zygotes sont détruits : le croisement est stérile.

L'hérédité du caractère lysogène λ a donc les propriétés de l'hérédité maternelle. Nous savons, cependant, grâce au fait que les bactéries sont haploïdes, que le déterminant de la lysogénie n'est pas cytoplasmique, mais chromosomique. Nous savons aussi que, dans des croisements de ce type, l'hérédité maternelle du caractère lysogène n'est qu'une apparence et qu'elle est la conséquence de l'induction zygotique du prophage λ .

Dans le cas de la sensibilité au gaz carbonique, comme dans celui de la lysogénie, les croisements réciproques ne donnent pas les mêmes résultats, la virogénie se comportant comme un caractère transmis par voie maternelle. Dans les deux cas, le transfert du provirus du gamète mâle au zygote semble avoir pour conséquence le passage du provirus à l'état végétatif. Cependant, alors que l'induction zygotique du prophage λ est létale pour le zygote, le développement du virus σ n'est pas pathogène pour la drosophile aussi longtemps qu'elle n'est pas soumise à l'action du gaz carbonique.

Ainsi, dans les deux cas où l'analyse génétique a pu être faite, il apparaît que des caractères héréditaires qui sont sous la dépendance d'un virus se comportent différemment dans les croisements réciproques entre individus porteurs de virus et individus indemnes. Il est vraisemblable que ces cas ne demeureront pas isolés. On peut se demander, en particulier, si certains caractères hérités par voie maternelle ne seraient pas précisément des caractères liés à la présence de virus chez l'un des types parentaux.

On peut imaginer que, dans certains de ces cas, des phénomènes analogues à l'induction zygotique d'un bactériophage tempéré pourraient se produire. Il est concevable, en effet, que tout virus puisse, comme le bactériophage, exister sous trois états différents : l'état provirus, l'état végétatif et l'état infectieux. Si, à la faveur d'une fécondation, la pénétration d'un provirus (Pr) dans une cellule non immune (Pr)⁻ induit le passage du provirus à l'état végétatif, on pourrait, comme dans le cas des bactéries lysogènes, observer une asymétrie dans les croisements réciproques.

Les manifestations de cette « induction zygotique » dépendraient, bien entendu, de l'expression phénotypique particulière de l'état provirus et de l'état végétatif. Si, par exemple, l'état provirus était le seul à avoir une expression phénotypique, dans un croisement $\sigma(\text{Pr})^+ \times \text{♀}(\text{Pr})^-$ le caractère (Pr)⁺ du mâle ne serait, pour ainsi dire, jamais transmis à

la descendance (sauf transition rare de l'état végétatif à l'état provirus, analogue à une lysogénisation). Si, au contraire, l'état végétatif seul avait une expression phénotypique, l'induction zygotique, dans un croisement $\sigma(\text{Pr})^+ \times \text{f}(\text{Pr})^-$, aurait pour effet l'apparition de caractères nouveaux. Ces caractères nouveaux dont l'expression dépendrait à la fois du virus en cause et de l'hôte pourraient prendre les formes les plus variées : stérilité du croisement, si, comme dans le cas du phage cette expression est létale, symptômes pathologiques divers, ou simples modifications du phénotype.

Il n'est pas possible, à l'heure actuelle, de dire si un modèle de ce genre pourrait s'appliquer à certains cas connus d'hérédité maternelle. L'exemple de la sensibilité au gaz carbonique chez la drosophile indique cependant que la lysogénie n'est pas un cas isolé. Un grand nombre d'exemples d'hérédité maternelle, attribués à des facteurs cytoplasmiques de nature indéterminée, ressemblent, dans leurs manifestations, à des maladies à virus. Qu'il suffise de rappeler ici les exemples classiques de la stérilité chez le maïs, des multiples anomalies observées chez *Epilobium*, ou chez les moustiques (voir les revues de Caspari, 1948 ; Michaelis, 1954 ; Kitzmiller, 1953 ; L'Héritier, 1955). Quoique la présence d'un virus, lorsqu'elle a été recherchée, n'ait pu être démontrée, on sait qu'une telle démonstration est souvent malaisée, particulièrement en ce qui concerne les virus des plantes. D'ailleurs, chez les bactéries lysogènes défectives, la présence d'un provirus, qui n'aboutit qu'exceptionnellement à la formation de particules infectieuses, donne cependant lieu au phénomène d'induction zygotique dans les mêmes conditions qu'avec les bactéries lysogènes normales. Dans ce cas, la lysogénie, processus non infectieux, est un caractère potentiel qui n'est transmis à la descendance d'un croisement que par les bactéries F-réceptrices.

RÉSUMÉ ET CONCLUSIONS

I. — La découverte de phénomènes de conjugaison et de recombinaison génétique chez les bactéries de la souche K12 d'*Escherichia coli* a permis d'établir qu'il existe une homologie essentielle entre l'appareil génétique de ces microorganismes et celui des organismes plus évolués. La conjugaison bactérienne a lieu entre bactéries de types sexuels opposés. Ce processus peut être assimilé à une fécondation, le transfert de matériel génétique se faisant à sens unique de *bactéries donatrices* (qui jouent le rôle de mâles) à *bactéries réceptrices* (qui peuvent être comparées à des gamètes femelles). Cette différenciation sexuelle a cependant des conséquences génétiques que l'on n'observe pas chez des organismes autres que les bactéries. Les croisements réciproques, en effet, ne donnent pas les mêmes résultats : les recombinants génétiques obtenus reçoivent plus de caractères génétiques des bactéries réceptrices que des bactéries donatrices.

II. — Pendant plusieurs années, les seuls croisements que l'on était à même de réaliser chez les bactéries étaient des croisements entre bactéries donatrices F^+ et bactéries réceptrices F^- où le nombre des recombinants obtenus n'excède jamais la proportion d'un recombinant pour cent mille bactéries parentales. Ces croisements à *basse fréquence de recombinaison* ont permis d'aborder l'étude de nombreux problèmes génétiques qui, chez les bactéries, étaient jusque-là inaccessibles à l'expérimentation.

L'un de ces problèmes est celui du *déterminisme génétique de la lysogénie*. Seule l'analyse génétique semblait, en effet, devoir permettre d'établir la nature de l'association qui, chez les bactéries lysogènes, existe entre le matériel génétique d'un virus, le bactériophage, et celui de la bactérie. La souche K12 d'*E. coli* est lysogène pour un bactériophage appelé λ . Dans les croisements à basse fréquence de recombinaison, les résultats des croisements réciproques entre bactéries lysogènes et bactéries non lysogènes diffèrent : alors que la ségrégation du caractère lysogène s'observe lorsque ce sont les bactéries réceptrices F^- qui sont lysogènes, le caractère lysogène n'est pour ainsi dire jamais transmis à des recombinants lorsque le prophage λ est porté par les bactéries donatrices F^+ .

III. — Tant que la formation de recombinants génétiques à basse fréquence demeura la seule expression connue de la conjugaison bactérienne, il était difficile de se représenter le déroulement des événements à l'échelon des bactéries individuelles. Cette analyse a été rendue possible grâce à la découverte de souches donatrices à « haute fréquence de recombinaison » (souches Hfr).

Dans les croisements entre bactéries donatrices de la souche Hfr H et bactéries F^- réceptrices, certains types de recombinants peuvent être formés avec une fréquence qui atteint environ 10 % du nombre des bactéries parentales. L'analyse de ces croisements à *haute fréquence de recombinaison* a permis de mettre en évidence les faits suivants :

a) le transfert de matériel génétique se fait à sens unique des bactéries donatrices aux bactéries réceptrices ;

b) alors que certains caractères génétiques sont transmis à haute fréquence à des recombinants, d'autres caractères génétiques ne sont transmis qu'à basse fréquence ;

c) on peut dresser une carte génétique des caractères transmis à haute fréquence par les bactéries Hfr H et les disposer sur un segment chromosomique qui, pour la commodité de l'expression est appelé *segment TL — Gal* (T, thréonine ; L, leucine ; Gal, galactose). Le long de ce segment il existe une polarité telle qu'un caractère génétique est transmis à des recombinants avec une fréquence d'autant plus grande qu'il est situé plus près des caractères TL.

IV. — Dans les croisements entre bactéries F^- lysogènes pour λ et bactéries Hfr H non lysogènes, on observe la ségrégation du caractère lysogène parmi les recombinants obtenus, et l'on peut localiser le déterminant génétique de la lysogénie sur le chromosome bactérien.

Dans les croisements où les souches Hfr H et F^- sont l'une et l'autre lysogènes, mais perpétuent des prophages λ génétiquement distincts, les caractères lysogènes des types parentaux ségrègent parmi les recombinants, ce qui démontre que *le prophage lui-même est le seul déterminant génétique de la lysogénie*. On peut ainsi localiser le prophage λ sur le chromosome de la bactérie Hfr H, au voisinage du locus Gal et au-delà de ce déterminant par rapport aux caractères TL.

Un certain nombre de bactériophages tempérés, tous actifs sur *E. coli* K12, ont été isolés. Les uns sont inductibles par la lumière ultraviolette, les autres ne sont pas inductibles. L'analyse génétique des croisements entre bactéries Hfr H non lysogènes et bactéries F^- lysogènes a permis de démontrer qu'à *chaque prophage correspond, sur le chromosome de la bactérie, une position spécifique*. Tous les prophages inductibles peuvent être localisés sur le chromosome bactérien, au-delà du caractère galactose. Les prophages non inductibles, au contraire,

sont liés à des caractères génétiques qui ne sont transmis qu'à basse fréquence par les bactéries Hfr H.

Ainsi, lorsqu'un bactériophage tempéré lysogénise une bactérie, l'information génétique de ce phage est dorénavant portée par une structure située sur le chromosome bactérien, en un locus qui est spécifique de ce phage particulier. Cette structure, le prophage, se comporte au cours des divisions bactériennes et dans certains croisements, comme un déterminant génétique bactérien.

V. — Dans les croisements entre bactéries Hfr H lysogènes pour λ et bactéries F^- non lysogènes, le caractère lysogène des bactéries donatrices n'est pour ainsi dire jamais retrouvé chez des recombinants. Le prophage, en effet, est induit par la conjugaison et son développement dans les bactéries réceptrices a pour conséquence la lyse de ces bactéries et la libération de particules infectieuses de phage. C'est l'*induction zygotique*. Le taux d'induction zygotique, qui est mesuré par la proportion des bactéries Hfr lysogènes dont le prophage est induit par la conjugaison, dépasse 50 % dans le cas de λ . Malgré la destruction d'un aussi grand nombre de zygotes, des recombinants sont néanmoins formés mais leur fréquence et les proportions dans lesquelles on retrouve, parmi ces recombinants, les différents caractères génétiques des bactéries donatrices sont profondément modifiées par rapport aux résultats obtenus dans les croisements où l'induction zygotique ne se produit pas.

Le taux d'induction zygotique de divers prophages inductibles varie d'un prophage à l'autre : il est d'autant plus élevé que le prophage considéré est situé plus près du locus Gal sur le chromosome des bactéries Hfr H. En faisant l'hypothèse que tout prophage inductible est induit lorsqu'il est transféré d'une bactérie Hfr H lysogène à une bactérie F^- non lysogène, il est conclu que *le taux d'induction zygotique d'un prophage inductible est une mesure de la fréquence du transfert de ce prophage au cours de la conjugaison*.

Ainsi, quoique la lysogénie soit un caractère héréditaire dont le déterminant est situé sur le chromosome bactérien, ce caractère, dans le cas d'un prophage inductible tel que λ , est en apparence hérité par voie maternelle. En effet, lorsque le prophage λ est porté par la bactérie mâle, donatrice, il n'est jamais transmis à la descendance d'un croisement. Il se comporte comme un *caractère létal qui s'exprime dès le stade zygote*.

VI. — En comparant les résultats de croisements où l'induction zygotique a lieu et les résultats de croisements où elle ne se produit pas, on peut définir et analyser les différentes étapes de la conjugaison dont les phases principales sont la *formation des zygotes* et la *formation des recombinants*. On peut ainsi définir les paramètres essentiels de la conju-

gaison bactérienne. La *fréquence de conjugaison* peut être déterminée en comparant différentes expressions de ce phénomène : la fréquence de recombinaison que l'on mesure dans une sélection donnée ne fournit en effet qu'une limite inférieure de la fréquence réelle de la conjugaison. La *fréquence de transmission* d'un caractère génétique des bactéries donatrices à des recombinants varie d'un caractère à l'autre. Elle peut être décomposée en deux facteurs : la *fréquence de transfert* de ce caractère des bactéries donatrices aux zygotes et son *coefficient d'intégration*.

On établit ainsi que dans un croisement à haute fréquence de recombinaison, mais aussi dans un croisement à basse fréquence de recombinaison, la *totalité* des bactéries donatrices participent à la conjugaison lorsqu'elles sont mises en présence d'un excès de bactéries réceptrices. Cette circonstance rend possible l'observation directe de la conjugaison, en particulier sur des images prises au microscope électronique où l'on voit les bactéries appariées unies par un pont.

VII. — L'analyse des croisements permet de conclure à l'hétérogénéité des zygotes formés. Ce sont des zygotes incomplets, ou *mérozygotes*, qui ont reçu des bactéries donatrices des segments chromosomiques de longueur variable. Il existe, le long du chromosome de la bactérie Hfr H, une polarité telle qu'un *déterminant génétique* a d'autant moins de chances d'être transféré aux zygotes qu'il est situé plus loin de l'une des extrémités, O, de ce chromosome. Les segments chromosomiques transférés sont donc, non seulement incomplets, mais orientés.

La conjugaison bactérienne aboutit, par conséquent, à une fécondation incomplète des gamètes femelles représentés par les bactéries réceptrices. Le terme de *méromixie* est proposé pour ce phénomène de zygoose incomplète. On peut ainsi rapprocher la conjugaison des autres mécanismes de transfert génétique chez les bactéries, la transduction et la transformation, qui, eux aussi, aboutissent à la formation de zygotes incomplets. Quant au mécanisme par lequel l'*intégration* des caractères génétiques issus des bactéries donatrices et du chromosome de la bactérie réceptrice s'accomplit dans un mérozygote, il y a tout lieu de penser qu'il ne s'agit pas d'un simple mécanisme de rupture et réunion des structures préexistantes.

VIII. — La polarité et le caractère incomplet des segments chromosomiques transférés des bactéries Hfr H sont la conséquence même du mécanisme par lequel s'accomplit le transfert génétique. C'est ce que démontre l'étude cinétique du transfert, que l'on peut réaliser en soumettant les bactéries en voie de conjugaison à une agitation mécanique. En interrompant la conjugaison à temps variables, on peut, en effet, déterminer le temps qui s'écoule entre le moment où les bactéries

de types sexuels opposés ont été mises en présence et celui où un déterminant génétique particulier commence à pénétrer dans la bactérie réceptrice. On peut ainsi dresser une *carte génétique en unités de temps*.

Ainsi, le caractère essentiel de la conjugaison, chez *E. coli* K12, réside dans le mécanisme du transfert génétique. Les collisions entre bactéries de types sexuels opposés aboutissent à la formation d'appariements spécifiques entre ces bactéries. Le chromosome de la bactérie donatrice commence à pénétrer par l'une de ses extrémités O (toujours la même pour un type donné de bactérie Hfr) dans la bactérie réceptrice. Ce processus est assez lent pour qu'il puisse être interrompu à volonté, en un point quelconque du chromosome bactérien. Le transfert de la totalité du chromosome de la bactérie Hfr durerait, dans les conditions habituelles des croisements, une centaine de minutes si, au cours de la lente progression du chromosome, des ruptures spontanées ne se produisaient. Dans leur immense majorité, les zygotes formés, n'ayant reçu qu'un segment chromosomique des bactéries donatrices, sont incomplets.

La conjugaison chez les bactéries diffère donc des processus sexuels tels qu'ils existent chez les autres organismes, puisqu'elle comporte non pas une caryogamie véritable, mais un transfert orienté et, en général, partiel du chromosome de la bactérie donatrice. Cette circonstance semble particulièrement favorable à l'étude de problèmes génétiques tels que celui des relations entre les déterminants génétiques et les structures qui les portent d'une part, celui des rapports entre les déterminants génétiques et les fonctions qu'ils gouvernent d'autre part.

BIBLIOGRAPHIE

Les livres, les mises au point et les revues sont marqués d'un astérisque.

- * ADAMS, M. (1950). — Methods of study of bacterial viruses. In « Methods in Medical Research », II, 1-73. The Year Book Ed., Chicago.
- ADELBERG, E. A. (1959). — *Sous presse*.
- ADELBERG, E. A. et MYERS, J. W. (1953). — Modification of the penicillin technique for the selection of auxotrophic bacteria. *J. Bact.*, **65**, 348-353.
- ALFOLDI, L., JACOB, F. et WOLLMAN, E. L. (1957). — Zygose létale dans les croisements entre souches colicinogènes et non colicinogènes. *C. R. Acad. Sci.*, **244**, 2974-2976.
- ALFOLDI, L., JACOB, F., WOLLMAN, E. L. et MAZÉ, R. (1958). — Sur le déterminisme génétique de la colicinogénie. *C. R. Acad. Sci.*, **246**, 3531-3533.
- ALLOWAY, J. L. (1932). — The transformation *in vitro* of R pneumococci into S forms of different specific types by the use of filtered pneumococcus extracts. *J. exp. Med.*, **55**, 91-99.
- * ANDERSON, T. F. (1949). — The reactions of bacterial viruses with their host cells. *Bot. Rev.*, **15**, 477.
- ANDERSON, T. F. (1952). — A method for eliminating gross artifacts in drying specimens. Congrès de Microscopie électronique, 565-576. Ed. Revue d'Optique, Paris.
- ANDERSON, T. F. (1958). — Recombination and segregation in *E. coli*. *Cold Spring Harb. Symp. Quant. Biol.*, **23**, 47-58.
- ANDERSON, T. F. et MAZÉ, R. (1957). — Analyse de la descendance de zygotes formés par conjugaison chez *E. coli* K12. *Ann. Inst. Pasteur*, **93**, 194-198.
- ANDERSON, T. F., WOLLMAN, E. L. et JACOB, F. (1957). — Sur les processus de conjugaison et de recombinaison chez *E. coli*. III. Aspects morphologiques ou microscopie électronique. *Ann. Inst. Pasteur*, **93**, 450-455.
- APPLEYARD, R. K. (1954a). — Segregation of λ lysogenicity during bacterial recombination in *E. coli* K12. *Genetics*, **39**, 429-439.
- APPLEYARD, R. K. (1954b). — Segregation of new lysogenic types during growth of a doubly lysogenic strain derived from *E. coli* K12. *Genetics*, **39**, 440-452.
- APPLEYARD, R. K., MCGREGOR, J. F. et BAIRD, K. M. (1956). — Mutation to extended host range and the occurrence of phenotypic mixing in the temperate coliphage λ . *Virology*, **2**, 565-574.
- ARBER, W. (1958). — Transduction des caractères Gal par le bactériophage λ . *Arch. des Sci.*, Genève, **11**, 259-338.
- ARBER, W., KELLENBERGER, G. et WEIGLE, J. J. (1957). — La défectuosité du phage λ transducteur. *Schweiz. Z. allgem. Path. u. Bakteriol.*, **20**, 659-665.
- * ARKWRIGHT, J. A. (1930). — Variation. In « A system of bacteriology in relation to medicine », **4**, 311-374. Medical Research Council, London.
- * AUSTRIAN, R. (1952). — Bacterial transformation reactions. *Bact. Rev.*, **16**, 31-50.
- AVERY, O. T., MACLEOD, C. M. et MCCARTY, M. (1944). — Studies on the chemical nature of the substance inducing transformation of pneumococcal types. Induction of transformation by a desoxyribonucleic acid fraction isolated from *Pneumococcus* type III. *J. exp. Med.*, **79**, 137-158.
- BADIAN, J. (1933). — Eine cytologische Untersuchung über das Chromatin und den Entwicklungszyklus der Bakterien. *Arch. Mikr.*, **4**, 409-418.

- BAIL, O. (1925). — Der Kolistamm 88 von Gildemeister und Herzberg. *Mediz-Klin.*, **21**, 1277-1279.
- * BEADLE, G. W. (1945). — Biochemical genetics. *Chem. Rev.*, **37**, 15-96.
- * BEADLE, G. W. (1957). — The role of the nucleus in heredity. In « The chemical basis of heredity », 3-22. The Johns Hopkins Press, Baltimore.
- BEADLE, G. W. et TATUM, E. L. (1941). — Genetic control of biochemical reactions in *Neurospora*. *Proc. Nat. Acad. Sci.*, **27**, 499-506.
- BEIJERINCK, M. W. (1900). — Mutation bei Mikroben. *Proc. Kon. Akad. v. Wet. Amsterdam*, **3**, 352; *Folia Microbiologica*, **1**, 4-100.
- BELSER, W. L. et BUNTING, M. I. (1956). — Studies on a mechanism providing for genetic transfer in *Serratia marcescens*. *J. Bact.*, **72**, 582-592.
- BENZER, S. (1957). — The elementary units of heredity. In « The chemical basis of heredity », 70-93. The Johns Hopkins Press, Baltimore.
- BERNSTEIN, H. L. (1958). — Fertility factors in *Escherichia*. Biological replication of macromolecules. *Symp. Soc. Exp. Biol.*, Cambridge University Press, **12**, 93-103.
- BERTANI, G. (1951). — Studies on lysogenesis. I. The mode of phage liberation by lysogenic *E. coli*. *J. Bact.*, **62**, 293-300.
- * BERTANI, G. (1958). — Lysogeny. In « Adv. Virus Res. », **5**, 151-194.
- * BISSET, K. A. (1950). — The cytology and life history of bacteria. Williams and Wilkins Co., Baltimore.
- BOIVIN, A., TULASNE, R., VENDRELY, R. et MINCK, R. (1947). — Le noyau des bactéries. *Arch. Sci. physiol.*, **1**, 307-323.
- BORDET, J. (1925). — Le problème de l'autolyse microbienne transmissible ou du bactériophage. *Ann. Inst. Pasteur*, **39**, 717-763.
- * BRAUN, W. (1947). — Bacterial dissociation. *Bact. Rev.*, **11**, 75-114.
- * BRAUN, W. (1953). — Bacterial genetics. Saunders Co., Philadelphie.
- * BRIERLEY, W. B. (1929). — Variation in fungi and bacteria. *Proc. Intern. Cong. Plant Sci.*, **11**, 1629-1654.
- BRIGGS, R. W. et KING, T. J. (1955). — Specificity of nuclear function in embryonic development. In « Biological specificity and growth », 207-228. E. G. Butler ed., Princeton Univ. Press, Princeton, New Jersey.
- BÜCHNER, H. (1882). — In NÄGELI « Untersuchungen über niedere Pilze », 140-177, 231-285. Munich et Leipzig.
- * BULLOCH, W. (1938). — The history of bacteriology. Oxford University Press.
- BURNET, E. (1925). — Actions d'entraînement entre races et espèces microbiennes. *Arch. Inst. Pasteur Tunis*, **14**, 384-403.
- BURNET, F. M. (1929). — « Smooth-rough » variation in bacteria and its relation to bacteriophage. *J. Path. Bact.*, **32**, 15-42.
- BURNET, F. M. et MCKIE, M. (1929). — Observations on a permanent lysogenic strain of *B. enteritidis* gærtnner. *Austr. J. exp. Biol. Med.*, **6**, 277-284.
- CALEF, E. et CAVALLI-SFORZA, L. L. (1955). — Peculiarità degli ibridi fra *coli* B e K12. *Ricerca Scient.*, **25** (suppl.), 123-127.
- CAMPBELL, A. (1957). — Transduction and segregation in *E. coli* K12. *Virology*, **4**, 366-384.
- CANTACUZÈNE, J. et BONCIU, O. (1926). — Modifications subies par les streptocoques d'origine non scarlatineuse au contact de produits scarlatineux filtrés. *C. R. Acad. Sci.*, **182**, 1185-1187.
- * CASPARI, E. (1948). — Cytoplasmic inheritance. *Adv. in Genetics*, **2**, 1-66.
- * CATCHESIDE, D. G. (1951). — The genetics of microorganisms. Pittman et Fils, Londres.
- CAVALLI-SFORZA, L. L. (1950). — La sessualità nei batteri. *Boll. Ist. Sieroter. Milan.*, **29**, 281-289.
- * CAVALLI-SFORZA, L. L. (1957). — Bacterial genetics. *Ann. Rev. Microb.*, **11**, 391-418.
- CAVALLI-SFORZA, L. L. et CALEF, E. (1955). — *Ricerca Sci.*, **25** (suppl.), 129-135.
- CAVALLI-SFORZA, L. L. et HESLOT, H. (1949). — Recombination in bacteria : outcrossing *E. coli* K12. *Nature*, **164**, 1057.
- CAVALLI-SFORZA, L. L. et JINKS, J. L. (1953). — Observations on the genetic

- and mating system of *E. coli* K12. *C. R. 9^e Cong. Intern. Génétique*, Bellagio, 967-969.
- CAVALLI-SFORZA, L. L. et JINKS, J. L. (1956). — Studies on the genetic system of *E. coli* K12. *J. Genetics*, **54**, 87-112.
- * CAVALLI-SFORZA, L. L. et LEDERBERG, J. (1953). — Genetics of resistance to bacterial inhibitions. In « Symposium on growth inhibition and chemotherapy », 108-142. *C. R. 6^e Cong. Intern. Microb.*, Rome.
- CAVALLI-SFORZA, L. L., LEDERBERG, J. et LEDERBERG, E. M. (1953). — An infective factor controlling sex compatibility in *Bacterium coli*. *J. gen. Microb.*, **8**, 89-103.
- CAVALLI-SFORZA, L. L. et MACCAGARO, G. A. (1950). — Chloromycetin resistance in *E. coli*. A case of quantitative inheritance in bacteria. *Nature*, **466**, 991-992.
- CAVALLI-SFORZA, L. L. et MACCAGARO, G. A. (1952). — Polygenic inheritance of drug-resistance in the bacterium *E. coli*. *Heredity*, **6**, 311-331.
- * Chemical basis of heredity (A symposium on the) (1957). — Édité par W. D. McELROY et M. B. GLASS. The Johns Hopkins Press, Baltimore.
- CLARK, J. B., HAAS, F., STONE, W. S. et WYSS, O. (1950). — The stimulation of gene recombination in *E. coli*. *J. Bact.*, **59**, 375-379.
- CLOWES, R. C., et ROWLEY, D. (1954a). — Genetic investigation of the inhibition by DL-norleucine of the K12 strain of *E. coli*. *J. gen. Microb.*, **11**, 27-33.
- CLOWES, R. C. et ROWLEY, D. (1954b). — Some observations on linkage effects in genetic recombination in *E. coli* K12. *J. gen. Microb.*, **11**, 250-260.
- COHEN, S. S. et ANDERSON, T. F. (1946). — Chemical studies on host virus interactions. I. The effect of bacteriophage adsorption on the multiplication of its host *E. coli* B. *J. exp. Med.*, **84**, 511-523.
- COHEN, G. N. et MONOD, J. (1957). — Bacterial permease. *Bact. Rev.*, **21**, 169-194.
- * COHN, F. (1872). — Untersuchungen über Bakterien. I. *Beitr. Z. Biol. d. Pflanzen*, **1** (fasc. 2), 126-224.
- * COHN, F. (1875). — Untersuchungen über Bakterien. II. *Beitr. Z. Biol. d. Pflanzen*, **1** (fasc. 3), 141-207.
- * COHN, F. (1879). — Über die morphologische Einheit der Spaltpilze und über Nägeli's Auffassungstheorie. *Deutsche Med. Wehnschr.*, **5**, 73-76.
- CROLAND, R. (1943). — Action des rayons X sur la fréquence d'une mutation bactérienne. *C. R. Acad. Sci.*, **216**, 616-618.
- * CUÉNOT, L. (1936). — L'espèce. Doin et C^{ie}, Paris.
- * DARLINGTON, C. D. (1939). — The evolution of genetic systems. Cambridge Univ. Press.
- DARLINGTON, C. D. (1949). — Les plasmagènes. In « Unités biologiques douées de continuité génétique », 123-130. Éditions du C.N.R.S., Paris.
- DAVIS, B. D. (1950a). — Studies on nutritionally deficient bacterial mutants isolated by means of penicillin. *Experientia*, **6**, 41-50.
- DAVIS, B. D. (1950b). — Non-filtrability of the agents of genetic recombination in *E. coli*. *J. Bact.*, **60**, 507-508.
- DAVIS, B. D. (1952). — Intermediates in the biosynthesis of proline, ornithine, histidine, lysine and the aromatic amino-acids. Symposium sur le métabolisme microbien, 32-40. *C. R. 2^e Cong. Intern. Biochimie*, Paris.
- DAWSON, M. H. et SIA, R. H. P. (1931). — *In vitro* transformation of pneumococcal types. *J. exp. Med.*, **54**, 681-699.
- DEAN, A. C. R. et HINSHELWOOD, C. N. (1953). — Observations on bacterial adaptation. In « Adaptation in microorganisms », 21-39. Symposium of the Society for general Microbiology.
- DELAPORTE, B. (1939). — Recherches cytologiques sur les bactéries et les cyanophycées. *Rev. gén. Bot.*, **51**, 615, 689, 748.
- * DELBRUCK, M. (1946). — Bacterial viruses or bacteriophages. *Biol. Rev.*, **21**, 30-40.
- DELBRUCK, M. et BAILEY, W. T. JR. (1946). — Induced mutations in bacterial viruses. *Cold Spring Harb. Symp.*, **11**, 33-37.

- DEMEREK, M. (1945). — Production of staphylococcus strains resistant to various concentrations of penicillin. *Proc. Nat. Acad. Sci.*, **31**, 16-24.
- DEMEREK, M. (1948). — Origin of bacterial resistance to antibiotics. *J. Bact.*, **56**, 63-74.
- DEMEREK, M. (1956). — A comparative study of certain gene loci in *Salmonella*. *Cold Spring Harb. Symp.*, **21**, 113-120.
- DEMEREK, M. et DEMEREK, Z. E. (1956). — Analysis of linkage relationships in *Salmonella* by transduction techniques. *Brookhaven Symp. Biol.*, **8**, 75-84.
- DEMEREK, M. et FANO, U. (1945). — Bacteriophage-resistant mutants in *E. coli*. *Genetics*, **30**, 119-136.
- * DOBELL, C. C. (1912). — Some recent work on mutation in microorganisms. II. Mutations in bacteria. *J. Genetics*, **2**, 325-350.
- * DOBZHANSKY, T. (1941). — Genetics and the origin of species. Columbia University Press, New York.
- DOGE, B. O. (1935). — The mechanisms of sexual reproduction in *Neurospora*. *Mycologia*, **27**, 418-438.
- DOERMANN, A. H. (1948). — Intracellular growth of bacteriophage. *Carnegie Institution of Washington Year Book*, **47**, 176-186.
- DOOREN DE JONG, L. E. DEN (1931). — Studien über Bakteriophagie. I. Über *Bac. megatherium* und den darin anwesenden Bakteriophagen. *Zentr. Bakteriöl. Parasitenk.*, 1 Abt. Orig., **120**, 1-15.
- * DUBOS, R. J. (1945). — The bacterial cell. Harvard University Press, Cambridge, Mass.
- DULBECCO, R. (1958). — Virus-cell interactions in latent infections. In « Latency and masking in viral and rickettsial infections ». D. L. Walker, R. P. Hanson et A. S. Evans ed. Editions Burgess et Cie, Minneapolis, Minnesota.
- * EPIRUSSI, B. (1953). — Nucleo cytoplasmic relations in microorganisms. Clarendon Press, Oxford.
- EPIRUSSI, B. et BEADLE, G. W. (1937). — Développement des couleurs des yeux chez la drosophile. *Bull. biol. France et Belgique*, **71**, 54-90.
- * EPIRUSSI-TAYLOR, H. (1955). — Current status of bacterial transformations. *Adv. Virus Res.*, **3**, 275-307.
- FILDES, P., GLADSTONE, G. P. et KNIGHT, B. C. J. G. (1933). — The nitrogen and vitamin requirements of *B. typhosus*. *Brit. J. exp. Path.*, **14**, 189-196.
- FISHER, K. W. (1957a). — The role of the Krebs cycle in conjugation in *E. coli* K12. *J. gen. Microb.*, **16**, 120-125.
- FISHER, F. W. (1957b). — The nature of the endergonic processes in conjugation in *E. coli* K12. *J. gen. Microb.*, **16**, 136-145.
- * FRÉDÉRICQ, P. (1948). — Actions antibiotiques réciproques chez les Entérobactériacées. *Revue Belge Path. Méd. exp.*, suppl. 4.
- FRÉDÉRICQ, P. (1953a). — Transfert génétique des propriétés lysogènes chez *E. coli*. *C. R. Soc. Biol.*, **147**, 2046-2048.
- FRÉDÉRICQ, P. (1953b). — Colicines et bactériophages. *Ann. Inst. Pasteur*, **84**, 294-312.
- FRÉDÉRICQ, P. (1954a). — Localisation du prophage sur le chromosome. Son intervention dans le taux de ségrégation apparent des recombinants d'*E. coli* K12. *C. R. Soc. Biol.*, **148**, 1501-1504.
- FRÉDÉRICQ, P. (1954b). — Transduction génétique des propriétés colicinogènes chez *Escherichia coli* et *Shigella sonnei*. *C. R. Soc. Biol.*, **148**, 399-402.
- FRÉDÉRICQ, P. (1955a). — Recherches génétiques sur la localisation du prophage λ sur le chromosome d'*E. coli* et sur son intervention dans la ségrégation de divers marqueurs. *C. R. Soc. Biol.*, **149**, 840-843.
- FRÉDÉRICQ, P. (1955). — Colicines et bactériophages dans la génétique bactérienne. *Ann. Soc. Roy. Sci. Méd. et Nat.*, Bruxelles, **8**, 15-27.
- FRÉDÉRICQ, P. (1956). — Résistance et immunité aux colicines. *C. R. Soc. Biol.*, **150**, 1514-1517.
- * FRÉDÉRICQ, P. (1957). — Colicins. *Ann. Rev. Microb.*, **11**, 7-22.

- FRÉDÉRICQ, P. et BETZ-BAREAU, M. (1952). — Recombinants génétiques de souches marquées par résistance aux colicines et aux bactériophages. *Ann. Inst. Pasteur*, **83**, 283-295.
- FRÉDÉRICQ, P. et BETZ-BAREAU, M. (1953). — Transfert génétique de la propriété colicinogène en rapport avec la polarité F des parents. *C. R. Soc. Biol.*, **147**, 2043-2045.
- FREEMAN, V. J. (1951). — Studies on the virulence of bacteriophage-infected strains of *Corynebacterium diphtheriae*. *J. Bact.*, **61**, 675-688.
- FRIED, P. J. et LEDERBERG, J. (1952). — Linkage in *E. coli* K12. *Genetics*, **37**, 582.
- FUERST, C. R., JACOB, F. et WOLLMAN, E. L. (1957). — Détermination de liaisons génétiques chez *E. coli* K12, à l'aide du radiophosphore. *C. R. Acad. Sci.*, **243**, 2162-2164.
- FUERST, C. R., JACOB, F. et WOLLMAN, E. L. (1959). — Sur les processus de conjugaison et de recombinaison génétique chez *E. coli*. VI. Étude du transfert et de la recombinaison à l'aide du radiophosphore. *En préparation*.
- FUERST, C. R. et STENT, G. S. (1956). — Inactivation of bacteria by decay of incorporated radioactive phosphorus. *J. gen. Physiol.*, **40**, 73-90.
- FURNESS, G. et ROWLEY, D. (1957). — The presence of the transmissible agent F in non-recombining strains of *Escherichia coli*. *J. gen. Microb.*, **17**, 550-561.
- GAREN, A. et ZINDER, N. D. (1955). — Radiological evidence for partial genetic homology between bacteriophage and host bacteria. *Virology*, **1**, 347-376.
- GOWEN, J. W. et LINCOLN, R. E. (1942). — A test for sexual fusion in bacteria. *J. Bact.*, **44**, 551-554.
- GRATIA, A. (1932). — Antagonisme microbien et « bactériophage ». *Ann. Inst. Pasteur*, **48**, 413.
- GRAY, C. H. et TATUM, E. L. (1944). — X-ray induced growth factor requirements in bacteria. *Proc. Nat. Acad. Sci.*, **30**, 404-410.
- GRIFFITH, F. (1928). — The significance of pneumococcal types. *J. Hyg.*, **27**, 113-159.
- * GUYÉNOT, E. (1930). — L'évolution. Doin et Cie, Paris.
- HAAN, P. G. DE (1954a). — Genetic recombination in *Escherichia coli* B. I. The transfer of the F agent to *E. coli* B. *Genetica*, **27**, 293-300.
- HAAN, P. G. DE (1954b). — Genetic recombination in *Escherichia coli* B. II. The cross resistance of *E. coli* B to the phages T3, T4 and T7. *Genetica*, **27**, 300-308.
- HAAN, P. G. DE (1955). — Genetic recombination in *Escherichia coli* B. III. The influence of experimental conditions on the transfer of unselected markers. *Genetica*, **27**, 364-376.
- HAAS, F., WYSS, O. et STONE, W. S. (1948). — The effect of irradiation on recombination in *E. coli*. *Proc. Nat. Acad. Sci.*, **34**, 229-232.
- * HADLEY, P. (1927). — Microbic dissociation. *J. Inf. Dis.*, **40**, 1-312.
- * HARTMANN, M. (1929). — Verteilung, Bestimmung und Vererbung des Geschlechts bei den Protisten und Thallophyten. Handbuch d. Vererbungswiss. II. E. Gebrüder Borntraeger, Berlin.
- * HARTMANN, P. E. (1957). — Transduction : a comparative review. In « The chemical basis of heredity », 408-462. The Johns Hopkins Press, Baltimore.
- HAYES, W. (1952a). — Recombination in *Bact. coli* K12 : unidirectional transfer of genetic material. *Nature*, **169**, 118-119.
- HAYES, W. (1952b). — Genetic recombination in *Bact. coli* K12 : analysis of the stimulating effect of ultraviolet light. *Nature*, **169**, 1017-1018.
- HAYES, W. (1953a). — Observations on a transmissible agent determining sexual differentiation in *Bact. coli*. *J. gen. Microb.*, **8**, 72-88.
- HAYES, W. (1953b). — The mechanism of genetic recombination in *E. coli*. *Cold Spring Harb. Symp.*, **18**, 75-93.
- HAYES, W. (1955). — A new approach to the study of kinetics of recombination in *E. coli* K12. Proceedings of the Society for general Microbiology. *J. gen. Microb.*, **13**, ii.

- HAYES, W. (1957). — The kinetics of the mating process in *E. coli*. *J. gen. Microb.*, **16**, 97-119.
- * HENRICI, A. T. (1938). — Morphologic variation and the rate of growth of bacteria. Baillière, Tindall et Cox, Londres.
- HERSHEY, A. D. (1946). — Spontaneous mutations in bacterial viruses. *Cold Spring Harb. Symp.*, **11**, 67-76.
- * HERSHEY, A. D. (1937). — Bacteriophages as genetic and biochemical systems. *Adv. Virus Res.*, **4**, 25-61.
- HERSHEY, A. D. et CHASE, M. (1952). — Independent function of viral protein and nucleic acid in growth of bacteriophage. *J. gen. Physiol.*, **36**, 39-56.
- HERSHEY, A. D., KAMEN, M. D., KENNEDY, J. W. et GEST, H. (1951). — Mortality of bacteriophage containing assimilated radioactive phosphorus. *J. gen. Physiol.*, **34**, 305-319.
- HERSHEY, A. D. et ROTMAN, R. (1948). — Linkage among genes controlling inhibition of lysis in a bacterial virus. *Proc. Nat. Acad. Sci.*, **34**, 89-96.
- * HINSHELWOOD, C. N. (1946). — The chemical kinetics of the bacterial cell. Clarendon Press, Oxford.
- HIROTA, Y. (1956). — Artificial elimination of the F factor in *Bact. coli* K12. *Nature*, **178**, 92.
- HIROTA, Y. et IJIMA, T. (1957). — Acriflavine as an effective agent for eliminating F factor in *E. coli* K12. *Nature*, **180**, 655-656.
- HOLLOWAY, B. W. (1955). — Genetic recombination in *Pseudomonas aeruginosa*. *J. gen. Microb.*, **13**, 572-581.
- HOLLOWAY, B. W. (1956). — Self-fertility in *Pseudomonas aeruginosa*. *J. gen. Microb.*, **15**, 221-224.
- HOROWITZ, N. H. et FLING, M. (1956). — The role of the genes in the synthesis of enzymes. In « Enzymes : units of biological structure and function », 139-145. Academic Press, New York.
- * HOTCHKISS, R. D. (1955). — Bacterial transformation. *J. cell. comp. Physiol.*, **45**, suppl. 2, 1-22.
- HOTCHKISS, R. D. (1956). — The genetic organization of the deoxyribonucleate units functioning in bacterial transformations. In « Enzymes : units of biological structure and function », 119-130. Academic Press, New York.
- HOTCHKISS, R. D. et MARMUR, J. (1954). — Double marker transformations as evidence of linked factors in desoxyribonucleate transforming agents. *Proc. Nat. Acad. Sci.*, **40**, 55-60.
- * HUTCHINSON, W. G. et STEMPEM, H. (1954). — Sex in bacteria : evidence from morphology. In « Sex in microorganisms », 29-41. Amer. Assoc. for the advancement of science, Washington, D. C.
- * HUXLEY, J. S. (1942). — Evolution : the modern synthesis. Harper, New York.
- IONESCO, H. (1953). — Sur une propriété du *Bacillus megatherium* liée à la présence d'un prophage. *C. R. Acad. Sci.*, **237**, 1794-1795.
- ISEKI, S. et SAKAI, T. (1953). — Artificial transformation of O antigens in *Salmonella* E group. II. Antigen-transforming factor in Bacilli of subgroup E₂. *Japan Academy*, **29**, 127-131.
- * JACOB, F. (1954a). — Les bactéries lysogènes et la notion de provirus. Monographies de l'Institut Pasteur. Masson éd., Paris.
- JACOB, F. (1954b). — Mutation d'un bactériophage induite par l'irradiation des seules bactéries-hôtes avant l'infection. *C. R. Acad. Sci.*, **238**, 732-734.
- JACOB, F. (1955). — Transduction of lysogeny in *Escherichia coli*. *Virology*, **1**, 207-220.
- JACOB, F. (1958). — Transfer and expression of genetic information in *Escherichia coli* K12. *Exp. Cell Res.*, suppl. 6, 51-68.
- * JACOB, F. (1959). — Genetic control of viral functions. *The Harvey Lectures*, série **54**, 1958-1959 (sous presse).
- JACOB, F., FUERST, C. R. et WOLLMAN, E. L. (1957). — Recherches sur les bactéries lysogènes défectives. II. Les types physiologiques liés aux mutations du prophage. *Ann. Inst. Pasteur*, **93**, 724-753.

- JACOB, F., LWOFF, A., SIMINOVITCH, L. et WOLLMAN, E. L. (1953). — Définitions de quelques termes relatifs à la lysogénie. *Ann. Inst. Pasteur*, **84**, 222-224.
- JACOB, F., SIMINOVITCH, L. et WOLLMAN, E. L. (1952). — Sur la biosynthèse d'une colicine et sur son mode d'action. *Ann. Inst. Pasteur*, **83**, 295-316.
- JACOB, F., SIMINOVITCH, L. et WOLLMAN, E. L. (1953). — Comparaison entre la biosynthèse induite de la colicine et des bactériophages et entre leur mode d'action. *Ann. Inst. Pasteur*, **84**, 313-318.
- JACOB, F. et WOLLMAN, E. L. (1954a). — Induction spontanée du développement du bactériophage λ au cours de la recombinaison génétique chez *E. coli* K12. *C. R. Acad. Sci.*, **239**, 455-456.
- JACOB, F. et WOLLMAN, E. L. (1954b). — Étude génétique d'un bactériophage tempéré d'*Escherichia coli*. I. Le système génétique du bactériophage λ . *Ann. Inst. Pasteur*, **87**, 653-673.
- JACOB, F. et WOLLMAN, E. L. (1955a). — Étapes de la recombinaison génétique chez *E. coli* K12. *C. R. Acad. Sci.*, **240**, 2566-2568.
- JACOB, F. et WOLLMAN, E. L. (1955b). — Étude génétique d'un bactériophage tempéré d'*Escherichia coli*. III. Effet du rayonnement ultraviolet sur la recombinaison génétique. *Ann. Inst. Pasteur*, **88**, 724-749.
- JACOB, F. et WOLLMAN, E. L. (1956a). — Recherches sur les bactéries lysogènes défectives. I. Déterminisme génétique de la morphogénèse chez un bactériophage tempéré. *Ann. Inst. Pasteur*, **90**, 282-302.
- JACOB, F. et WOLLMAN, E. L. (1956b). — Sur les processus de conjugaison et de recombinaison génétique chez *E. coli*. I. L'induction par conjugaison ou induction zygotique. *Ann. Inst. Pasteur*, **91**, 486-510.
- JACOB, F. et WOLLMAN, E. L. (1956c). — Recombinaison génétique et mutants de fertilité chez *E. coli* K12. *C. R. Acad. Sci.*, **242**, 303-306.
- * JACOB, F. et WOLLMAN, E. L. (1957a). — Genetic aspects of lysogeny. In « The chemical basis of heredity », 468-498. Édité par W. D. McElroy et H. B. Glass. The Johns Hopkins Press, Baltimore.
- JACOB, F. et WOLLMAN, E. L. (1957b). — Analyse des groupes de liaison génétique de différentes souches donatrices. *C. R. Acad. Sci.*, **245**, 1840-1843.
- JACOB, F. et WOLLMAN, E. L. (1958a). — Genetic and physical determinations of chromosomal segments in *E. coli*. In « The biological replication of macromolecules ». *Symp. Soc. Exp. Biol.*, **12**, 75-92.
- JACOB, F. et WOLLMAN, E. L. (1958b). — Les épisomes, éléments génétiques ajoutés. *C. R. Acad. Sci.*, **247**, 154-156.
- JACOB, F. et WOLLMAN, E. L. (1958c). — Sur les processus de conjugaison et de recombinaison chez *E. coli*. IV. Prophages inductibles et mesures des segments génétiques transférés au cours de la conjugaison. *Ann. Inst. Pasteur*, **95**, 497-519.
- JACOB, F. et WOLLMAN, E. L. (1959). — The relationship between the prophage and the bacterial chromosome in lysogenic bacteria. In « Recent progress in microbiology », 7^e Congrès Intern. Microb., Stockholm, Almquist et Wiksell éd., 15-30.
- KAISER, A. D. (1955). — A genetic study of the temperate coliphage λ . *Virology*, **1**, 424-443.
- KAISER, A. D. (1957). — Mutations in a temperate bacteriophage affecting its ability to lysogenize *E. coli*. *Virology*, **3**, 42-61.
- KAISER, A. D. et JACOB, F. (1957). — Recombination between related temperate bacteriophages and the genetic control of immunity and prophage localization. *Virology*, **4**, 509-521.
- * KAPLAN, R. (1952). — Genetics of microorganisms. *Ann. Rev. Microb.*, **6**, 49-76.
- * KITZMILLER, J. B. (1953). — Mosquito genetics and cytogenetics. *Rev. Bras. de Malariol. e d. Trop.*, **5**, 285-359.
- * KNIGHT, B. C. J. G. (1936). — Bacterial nutrition. Med. Res. Council, Special Rep. series 210, Londres.
- KOCH, R. (1881). — Zur Untersuchung von pathogenen Organismen. *Mitth. a. d. Kaiserl. Gesundheitsamte*, **1**, 1-48.

- KUHN, P. et EBELING, E. (1916). — Untersuchung über die Paragglutination. *Z. Immun. Forsch.*, **25**, 1-43.
- LEDERBERG, E. M. (1951). — Lysogenicity in *E. coli* K12. *Genetics*, **36**, 560.
- LEDERBERG, E. M. (1952). — Allelic relationships and reverse mutation in *E. coli*. *Genetics*, **37**, 469-483.
- LEDERBERG, E. M. (1954). — The inheritance of lysogenicity in interstrain crosses of *E. coli*. *Genetics*, **39**, 978.
- LEDERBERG, E. M. et LEDERBERG, J. (1953). — Genetics studies of lysogenicity in *E. coli*. *Genetics*, **38**, 51-64.
- LEDERBERG, J. (1947). — Gene recombination and linked segregations in *E. coli*. *Genetics*, **32**, 505-525.
- * LEDERBERG, J. (1948). — Problems in microbial genetics. *Heredity*, **2**, 145-198.
- * LEDERBERG, J. (1949a). — Bacterial variation. *Ann. Rev. Microb.*, **3**, 1-22.
- LEDERBERG, J. (1949b). — Aberrant heterozygotes in *Escherichia coli*. *Proc. Nat. Acad. Sci.*, **35**, 178-184.
- * LEDERBERG, J. (1950a). — Isolation and characterization of biochemical mutants of bacteria. In « Methods in medical research », **3**, 5-22. The Year Book Publishers, Chicago.
- LEDERBERG, J. (1950b). — The selection of genetic recombinations with bacterial growth inhibitors. *J. Bact.*, **59**, 211-215.
- LEDERBERG, J. (1951a). — Streptomycin resistance : a genetically recessive mutation. *J. Bact.*, **61**, 549-550.
- LEDERBERG, J. (1951b). — Prevalence of *E. coli* strains exhibiting genetic recombination. *Science*, **114**, 68-69.
- * LEDERBERG, J. (1952). — Cell genetics and hereditary symbiosis. *Physiol. Rev.*, **32**, 403-430.
- LEDERBERG, J. (1955a). — Recombination mechanism in bacteria. *J. cell. and comp. Physiol.*, **45** (suppl. 2), 75-108.
- LEDERBERG, J. (1955b). — Genetic recombination in bacteria. *Science*, **122**, 920.
- LEDERBERG, J. (1956a). — Conjugal pairing in *E. coli*. *J. Bact.*, **71**, 497-498.
- LEDERBERG, J. (1956b). — Prospects for a genetics of somatic and tumor cells. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, **63** (5), 662-665.
- LEDERBERG, J. (1957). — Sibling recombinants in zygote pedigrees of *E. coli*. *Proc. Nat. Acad. Sci.*, **43**, 1060-1065.
- LEDERBERG, J. (1958). — Extranuclear transmission of the F compatibility factor in *E. coli*. *C. R. 7^e Cong. Intern. Microb.*, Stockholm, 59-60.
- LEDERBERG, J., CAVALLI, L. L. et LEDERBERG, E. M. (1952). — Sex compatibility in *E. coli*. *Genetics*, **37**, 720-730.
- LEDERBERG, J. et EDWARDS, P. R. (1953). — Serotypic recombination in *Salmonella*. *J. Immunol.*, **71**, 232-240.
- LEDERBERG, J. et LEDERBERG, E. M. (1952). — Replica plating and indirect selection of bacterial mutants. *J. Bact.*, **63**, 399-406.
- LEDERBERG, J., LEDERBERG, E. M., ZINDER, N. D. et LIVELY, E. R. (1951). — Recombination analysis of bacterial heredity. *Cold Spring Harb. Symp.*, **16**, 413-441.
- LEDERBERG, J. et TATUM, E. L. (1946a). — Novel genotypes in mixed cultures of biochemical mutants of bacteria. *Cold Spring Harb. Symp.*, **11**, 113-114.
- LEDERBERG, J. et TATUM, E. L. (1946b). — Gene recombination in *E. coli*. *Nature*, **158**, 558.
- * LEDERBERG, J. et TATUM, E. L. (1953). — Sex in bacteria : genetic studies, 1945-1952. *Science*, **118**, 169-175.
- LEGROUX, R. et GENEVRAY, J. (1933). — Étude comparative entre le bacille de Whitmore et le bacille pyocyane. *Ann. Inst. Pasteur*, **51**, 249-264.
- LE MINOR, L. et LE MINOR, S. — In WOLLMAN, JACOB et HAYES, 1956.
- LENNOX, E. S. (1955). — Transduction of linked genetic characters of the host by bacteriophage P1. *Virology*, **1**, 190-206.
- LEVINE, M. (1957). — Mutations in the temperate phage P22 and lysogeny in *Salmonella*. *Virology*, **3**, 22-41.

- LEVINTHAL, C. (1954). — Recombination in phage T₂ : its relationship to heterozygosis and growth. *Genetics*, **39**, 169-184.
- * LEWIS, E. B. (1951). — Pseudo allelism and gene evolution. *Cold Spring Harb. Symp.*, **16**, 159-172.
- LEWIS, I. M. (1934). — Bacterial variation with special reference to behavior of some mutable strains of colon bacteria in synthetic media. *J. Bact.*, **28**, 619-639.
- L'HÉRITIER, Ph. (1954). — Le virus héréditaire de la drosophile. In « Problèmes actuels de virologie », 88-106. Masson éd., Paris.
- * L'HÉRITIER, Ph. (1955). — Les virus intégrés et l'unité cellulaire. *Ann. Biol.*, **31**, 481-496.
- * L'HÉRITIER, Ph. (1958). — The hereditary virus of *Drosophila*. *Adv. in virus Res.*, **5**, 195-245.
- LIEB, M., WEIGLÉ, J. J. et KELLENBERGER, E. (1955). — A study of hybrids between two strains of *E. coli*. *J. Bact.*, **69**, 468-471.
- * LÖHNIS, F. (1921). — Studies upon the life cycles of bacteria. *Memoirs Nat. Acad. Sci., U. S.*, **16**, 1-252.
- LURIA, S. E. (1945). — Mutations of bacterial viruses affecting their host range. *Genetics*, **30**, 84-99.
- * LURIA, S. E. (1947). — Recent advances in bacterial genetics. *Bact. Rev.*, **11**, 1-40.
- * LURIA, S. E. (1953). — General virology. John Wiley and Sons Ed., New York.
- LURIA, S. E. et BURROUS, J. W. (1957). — Hybridization between *Escherichia coli* and *Shigella*. *J. Bact.*, **74**, 461-476.
- LURIA, S. E. et DELBRÜCK, M. (1943). — Mutations of bacteria from virus sensitivity to virus resistance. *Genetics*, **28**, 491-511.
- * LWOFF, A. (1932). — Recherches biochimiques sur la nutrition des protozoaires. Masson éd., Paris.
- * LWOFF, A. (1938). — Les facteurs de croissance pour les microorganismes. *C. R. 1^{er} Congrès des Microbiologistes de Langue française*, Paris.
- * LWOFF, A. (1943). — L'évolution physiologique. Hermann éd., Paris.
- * LWOFF, A. (1953). — Lysogeny. *Bact. Rev.*, **17**, 269-337.
- LWOFF, A. (1957). — The concept of virus. *J. gen. Microb.*, **17**, 239-253.
- LWOFF, A. et GUTMANN, A. (1950). — Recherches sur un *Bacillus megatherium* lysogène. *Ann. Inst. Pasteur*, **78**, 711-739.
- LWOFF, A., SEMINOVITCH, L. et KJELDGAARD, N. (1950). — Induction de la production de bactériophages chez une bactérie lysogène. *Ann. Inst. Pasteur*, **79**, 815-858.
- MACCACHARO, G. A. (1955). — Cell surface and fertility in *E. coli*. *Nature*, **176**, 125-126.
- MACCACHARO, G. A. et COMOLLI, R. (1956). — Surface properties correlated with sex compatibility in *E. coli*. *J. gen. Microb.*, **15**, 121-132.
- MALOGOLOWKIN, C. et POULSON, D. F. (1957). — Infective transfer of maternally inherited abnormal sex-ratio in *Drosophila willistoni*. *Science*, **126**, 32.
- MANTEN, A. et ROWLEY, D. (1953). — Genetic analysis of valine inhibition in the K12 strain of *Bact. coli*. *J. gen. Microb.*, **9**, 226-233.
- * MARCHAL, J. G. (1932). — Variation et mutation en bactériologie. Le François, Paris.
- MASON, D. J. et POWELSON, D. M. (1955). — Nuclear division as observed in live bacteria by a new technique. *J. Bact.*, **71**, 474-479.
- MASSINI, R. (1907). — Über einen in biologischer Beziehung interessanten Kolistamm (*Bacterium coli mutabile*). *Arch. Hyg.*, **61**, 250-292.
- MCCLINTOCK, B. (1956). — Controlling elements and the gene. *Cold Spring Harb. Symp.*, **21**, 197-216.
- MCELROY, W. D. et FRIEDMAN, S. (1951). — Gene recombination in luminous bacteria. *J. Bact.*, **62**, 129-130.
- McILWAIN, H. (1941). — A nutritional investigation of the antibacterial action of acriflavine. *Biochem. J.*, **35**, 1311-1319.

- * MICHAELIS, P. (1954). — Cytoplasmic inheritance in *Epilobium* and its theoretical significance. *Adv. in Genetics*, **6**, 287-401.
- * MONOD, J. (1942). — Recherches sur la croissance des cultures bactériennes. Hermann éd., Paris.
- MONOD, J. et AUDUREAU, A. (1946). — Mutation et adaptation enzymatique chez *E. coli* mutabile. *Ann. Inst. Pasteur*, **72**, 868-878.
- MONOD, J. et COHN, M. (1952). — La biosynthèse induite des enzymes (adaptation enzymatique). *Adv. Enzymol.*, **13**, 67-119.
- MONOD, J. et WOLLMANN, E. L. (1947). — L'inhibition de la croissance et de l'adaptation enzymatique chez les bactéries infectées par le bactériophage. *Ann. Inst. Pasteur*, **73**, 937-957.
- MORSE, M. L., LEDERBERG, E. M. et LEDERBERG, J. (1956a). — Transduction in *E. coli* K12. *Genetics*, **41**, 142-156.
- MORSE, M. L., LEDERBERG, E. M. et LEDERBERG, J. (1956b). — Transductional heterogenotes in *Escherichia coli*. *Genetics*, **41**, 758-779.
- MULLER, H. J. (1947). — The gene. *Proc. Roy. Soc., Londres, Ser. B*, **434**, 1-37.
- * NÄGELI, C. VON (1877). — Die niederen Pilze in ihren Beziehungen zu den Infektions Krankheiten und der Gesundheitspflege. Munich.
- NELSON, T. C. (1951). — Kinetics of genetic recombination in *E. coli*. *Genetics*, **36**, 162-175.
- NELSON, T. C. et LEDERBERG, J. (1954). — Postzygotic elimination of genetic factors in *E. coli*. *Proc. Nat. Acad. Sci.*, **40**, 415-419.
- NEWCOMBE, H. B. (1949). — Origin of bacterial variants. *Nature*, **164**, 150.
- NEWCOMBE, H. B. et HAWIRKO, R. (1949). — Spontaneous mutation to streptomycin resistance and dependence in *E. coli*. *J. Bact.*, **57**, 565-572.
- NEWCOMBE, H. B. et NYHOLM, M. H. (1950a). — The inheritance of streptomycin resistance and dependence in crosses of *E. coli*. *Genetics*, **35**, 603-611.
- NEWCOMBE, H. B. et NYHOLM, M. H. (1950b). — Anomalous segregations in crosses of *E. coli*. *Amer. Naturalist*, **84**, 457-465.
- OAKBERG, E. F. et LURIA, S. E. (1947). — Mutations to sulfonamide resistance in *Staphylococcus aureus*. *Genetics*, **32**, 249-261.
- * OBERLING, C. (1954). — Le cancer, Gallimard éd., Paris.
- PARDEE, A. B., JACOB, F. et MONOD, J. (1958). — Sur l'expression et le rôle des allèles « inductible » et « constitutif » dans la synthèse de la β -galactosidase chez des zygotes d'*E. coli*. *C. R. Acad. Sci.*, **246**, 3125-3128.
- PARDEE, A. B., JACOB, F. et MONOD, J. (1959). — Genetic control of cytoplasmic expression on inducibility in the synthesis of β -galactosidase by *E. coli*. *J. mol. Biol., sous presse*.
- PIEKARSKI, G. (1937). — Cytologische Untersuchungen an Paratyphus und Coli-bakterien. *Arch. f. Mikrob.*, **8**, 428-439.
- PONTECORVO, G. (1956). — Allelism. *Cold Spring Harb. Symp.*, **21**, 171-174.
- REED, G. B. (1937). — Independent variation of several characteristics in *S. marcescens*. *J. Bact.*, **34**, 255-266.
- RICHTER, A. (1957). — Complementary determinants of an Hfr phenotype in *E. coli* K12. *Genetics*, **42**, 391.
- RICHTER, A. (1958). — Recombination analysis of mating type in *E. coli* K12. *C. R. 10^e Congrès de Génétique*, Montréal.
- RIPPEL, A. (1929). — Variabilität bei Bakterien. *Med. Klin. Wochenschrift f. Prakt. Ärzte*, **25**, 767-769.
- ROBINOW, C. F. (1942). — A study of the nuclear apparatus of bacteria. *Proc. Roy. Soc. London, B* **430**, 299-324.
- * ROBINOW, C. F. (1956). — The chromatin bodies of bacteria. *Bact. Rev.*, **20**, 207-242.
- ROEPKE, R. R., LIBBY, R. L. et SMALL, M. H. (1944). — Mutation or variation of *E. coli* with respect to growth requirements. *J. Bact.*, **48**, 401-419.
- ROTHFELS, K. H. (1952). — Gene linearity and negative interference in crosses of *E. coli*. *Genetics*, **37**, 297-311.

- RUBIN, H. (1959). — Special interaction between virus and cell in the Rous sarcoma. In « Virus growth and variation ». *Symp. Soc. Gen. Microbiol.*, sous presse.
- RYAN, F. J. et LEDERBERG, J. (1946). — Reverse mutation and adaptation in leucineless *Neurospora*. *Proc. Nat. Acad. Sci.*, **32**, 163-173.
- SERMONTI, G. et SPADA-SERMONTI, I. (1956). — Gene recombination in *Streptomyces coelicolor*. *J. gen. Microb.*, **45**, 609-616.
- * SEVAG, M. G. (1946). — Enzyme problems in relation to chemotherapy. « adaptations », mutations, resistance and immunity. *Adv. Enzymol.*, **6**, 33-127.
- SHERMAN, J. M. et WING, H. U. (1937). — Attempts to reveal sex in bacteria; with some light on fermentative variability in the coli-aerogenes group. *J. Bact.*, **33**, 315-321.
- SKAAR, P. D. et GAREN, A. (1956). — The orientation and extent of gene transfer in *E. coli*. *Proc. Nat. Acad. Sci.*, **42**, 619-624.
- SKAAR, P. D., RICHTER, A. et LEDERBERG, J. (1957). — Correlated selection for motility and sex incompatibility in *E. coli* K12. *Proc. Nat. Acad. Sci.*, **43**, 329-333.
- SMITH, J. D. et SIMINOVITCH, L. (1953). — In Lwoff « Lysogeny », *Bact. Rev.*, **17**, 320.
- * SPIEGELMAN, S. et LANDMAN, O. E. (1954). — Genetics of microorganisms. *Ann. Rev. Microb.*, **8**, 181-236.
- STENT, G. S. (1953). — Mortality due to radioactive phosphorus as an index to bacteriophage development. *Cold Spring Harb. Symp. Quant. Biol.*, **18**, 255-259.
- * STENT, G. S. (1958). — Mating in the reproduction of bacterial viruses. *Adv. in virus Res.*, **5**, 95-149.
- STENT, G. S. et FUERST, C. R. (1955). — Inactivation of bacteriophages by decay of incorporated radioactive phosphorus. *J. gen. Physiol.*, **38**, 441-458.
- STENT, G. S., FUERST, C. R. et JACOB, F. (1957). — Inactivation d'un prophage par la désintégration du radiophosphore. *C. R. Acad. Sci.*, **244**, 1840-1842.
- STOCKER, B. A. D., ZINDER, N. D. et LEDERBERG, J. (1953). — Transduction of flagellar characters in *Salmonella*. *J. gen. Microb.*, **9**, 410-433.
- TATUM, E. L. (1945). — X-ray induced mutant strains of *E. coli*. *Proc. Nat. Acad. Sci.*, **31**, 215-219.
- TATUM, E. L. (1946). — Induced biochemical mutations in bacteria. *Cold Spring Harb. Symp.*, **11**, 278-284.
- TATUM, E. L. et LEDERBERG, J. (1947). — Gene recombination in the bacterium *Escherichia coli*. *J. Bact.*, **53**, 673-684.
- * TATUM, E. L. et PERKINS, D. D. (1950). — Genetics of microorganisms. *Ann. Rev. Microb.*, **4**, 129-150.
- TULASNE, R. (1949). — Mise en évidence du noyau chez les bactéries vivantes grâce au dispositif à contraste de phase. *C. R. Acad. Sci.*, **229**, 5610.
- VAN LOCHEM, J. J. (1929). — Die Individualitätstheorie der Bakteriellen Veränderlichkeit. *Zeitsch. f. Hyg.*, **110**, 382-390.
- * VAN NIEL, C. B. (1946). — The classification and natural relationship of bacteria. *Cold Spring Harb. Symp. Quant. Biol.*, **11**, 285-300.
- WATSON, J. D. et CRICK, F. H. C. (1953). — The structure of D.N.A. *Cold Spring Harb. Symp. Quant. Biol.*, **18**, 123-131.
- WATSON, J. D. et HAYES, W. (1953). — Genetic exchange in *E. coli* K12; evidence for three linkage groups. *Proc. Nat. Acad. Sci.*, **39**, 416-426.
- WEIGLÉ, J. J. (1953). — Induction of mutations in a bacterial virus. *Proc. Nat. Acad. Sci.*, **39**, 628-636.
- WEIGLÉ, J. J. (1957). — Transduction by coliphage λ of the galactose marker. *Virology*, **4**, 14-25.
- WEIGLÉ, J. J. et BERTANI, G. (1953). — Variations des bactériophages conditionnées par les bactéries-hôtes. *Ann. Inst. Pasteur*, **84**, 175-179.
- WEIGLÉ, J. J. et DELBRÜCK, M. (1951). — Mutual exclusion between an infecting phage and a carried phage. *J. Bact.*, **62**, 301-318.

- WINGE, O. (1935). — On haplophase and diplophase in some saccharomycetes. *C. R. Lab. Carlsberg, Sér. Physiol.*, **21**, 77-112.
- WITKIN, E. M. (1947). — Genetics of resistance to radiation in *Escherichia coli*. *Genetics*, **32**, 221-248.
- WITKIN, E. M. (1951). — Nuclear segregation and the delayed appearance of induced mutants *E. coli*. *Cold Spring Harb. Symp.*, **16**, 357-371.
- WOLLMAN, E. (1925). — Recherches sur la bactériophagie. I. *Ann. Inst. Pasteur*, **39**, 789-833.
- WOLLMAN, E. (1927). — Recherches sur la bactériophagie. II. *Ann. Inst. Pasteur*, **41**, 883-919.
- WOLLMAN, E. (1928). — Bactériophagie et processus similaires. Héritéité ou infection ? *Bull. Inst. Pasteur*, **26**, 1-22.
- WOLLMAN, E. et WOLLMAN, E. (1925). — Sur la transmission parahéréditaire de caractères chez les bactéries. *C. R. Soc. Biol.*, **93**, 1568-1569.
- WOLLMAN, E. et WOLLMAN, E. (1936). — Régénération des bactériophages chez le *B. megatherium* lysogène. *C. R. Soc. Biol.*, **122**, 190-192.
- WOLLMAN, E. et WOLLMAN, E. (1937). — Les phases des bactériophages (facteurs lysogènes). *C. R. Soc. Biol.*, **124**, 931-934.
- WOLLMAN, E. et WOLLMAN, E. (1938). — Recherches sur le phénomène de Twort d'Hérelle (bactériophagie ou autolyse hérédito-contagieuse). *Ann. Inst. Pasteur*, **60**, 13-58.
- WOLLMAN, E. L. (1953). — Sur le déterminisme génétique de la lysogénie. *Ann. Inst. Pasteur*, **84**, 281-294.
- WOLLMAN, E. L. et JACOB, F. (1954a). — Lysogénie et recombinaison génétique chez *E. coli* K12. *C. R. Acad. Sci.*, **239**, 455-456.
- WOLLMAN, E. L. et JACOB, F. (1954b). — Etude génétique d'un bactériophage tempéré d'*Escherichia coli*. II. Mécanisme de la recombinaison génétique. *Ann. Inst. Pasteur*, **87**, 674-690.
- WOLLMAN, E. L. et JACOB, F. (1955). — Sur le mécanisme du transfert de matériel génétique au cours de la recombinaison chez *E. coli* K12. *C. R. Acad. Sci.*, **240**, 2449-2451.
- WOLLMAN, E. L. et JACOB, F. (1957). — Sur les processus de conjugaison et de recombinaison chez *E. coli*. II. La localisation chromosomique du prophage λ et les conséquences génétiques de l'induction zygotique. *Ann. Inst. Pasteur*, **93**, 323-339.
- WOLLMAN, E. L. et JACOB, F. (1958a). — Sur le déterminisme génétique des types sexuels chez *E. coli* K12. *C. R. Acad. Sci.*, **247**, 536-539.
- WOLLMAN, E. L. et JACOB, F. (1958b). — Sur les processus de conjugaison et de recombinaison chez *E. coli*. V. Le mécanisme du transfert de matériel génétique. *Ann. Inst. Pasteur*, **95**, 641-666.
- * WOLLMAN, E. L., JACOB, F. et HAYES, W. (1956). — Conjugation and genetic recombination in *Escherichia coli*. *Cold Spring Harb. Symp.*, **21**, 141-162.
- * WYSS, O et HAAS, F. L. (1953). — Genetics of microorganisms. *Ann. Rev. Microb.*, **7**, 47-82.
- * ZELLE, M. R. (1955). — Genetics of microorganisms. *Ann. Rev. Microb.*, **9**, 45-98.
- ZELLE, M. R. et LEDERBERG, J. (1951). — Single cell isolations of diploid heterozygous *E. coli*. *J. Bact.*, **61**, 351-355.
- ZINDER, N. D. (1953). — Infective heredity in bacteria. *Cold Spring Harb. Symp.*, **18**, 261-269.
- ZINDER, N. D. et LEDERBERG, J. (1952). — Genetic exchange in *Salmonella*. *J. Bact.*, **64**, 679-699.
- * ZOPF, W. (1885). — Die Speltpilze, nach dem neuesten Standhankte bearbeitet. Breslau.

TABLE DES MATIÈRES

INTRODUCTION	v
------------------------	---

Première partie. — LES ÉTAPES DE LA GÉNÉTIQUE BACTÉRIENNE

CHAPITRE PREMIER. — <i>La variabilité des bactéries</i>	3
I. — Les espèces bactériennes	4
II. — Les variations bactériennes	5
III. — Les mutations bactériennes et leurs caractères.	9
A. Les caractères utilisés dans l'étude des mutations bactériennes	10
B. Les mutations spontanées chez les bactéries	11
C. Les mutations induites et la génétique physiologique.	12
IV. — L'appareil génétique des bactéries	14
CHAPITRE II. — <i>Les modes de transfert de caractères héréditaires chez les bactéries et le problème génétique de la lysogénie</i>	16
I. — La recombinaison génétique chez les bactéries.	16
II. — Le transfert de caractères héréditaires chez les bactéries.	21
A. La transformation.	22
B. La lysogénisation	24
C. La transduction	25
III. — La lysogénie et son déterminisme génétique	27
A. La notion de prophage	27
B. Le prophage, unité génétique	29

Deuxième partie. — LA RECOMBINAISON GÉNÉTIQUE A BASSE FRÉQUENCE

CHAPITRE III. — <i>Les caractéristiques des croisements à basse fréquence de recombinaison</i>	35
I. — L'analyse génétique des croisements	35
A. Les méthodes de l'analyse génétique	35
B. Les bases de l'analyse génétique.	36

II. — Les développements de l'analyse génétique	38
A. La recombinaison génétique et les relations d'allélisme	40
B. Les diploïdes hétérozygotes et l'analyse fonctionnelle de l'allélisme	41
C. Les croisements entre souches lysogènes et non lysogènes d' <i>E. coli</i> K12	43
D. La recombinaison génétique dans le groupe <i>Escherichia coli</i>	45
III. — Les difficultés de l'analyse génétique	46
A. Les croisements entre bactéries haploïdes	46
B. La ségrégation des diploïdes hétérozygotes	47
CHAPITRE IV. — <i>La différenciation sexuelle et ses conséquences génétiques</i>	49
I. — La polarité des croisements bactériens	49
A. La polarité sexuelle	50
B. Le facteur de fertilité F	51
C. La polarité génétique.	53
II. — Polarité sexuelle et lysogénie.	55
III. — Polarité sexuelle et fertilité bactérienne	58
IV. — Les hypothèses concernant le mécanisme de la recombinaison génétique	59
A. Hypothèses de Lederberg et Cavalli	60
B. Hypothèses de Hayes.	60

Troisième partie. — LA RECOMBINAISON GÉNÉTIQUE A HAUTE FRÉQUENCE

CHAPITRE V. — <i>Les caractéristiques des croisements à haute fréquence de recombinaison</i>	67
I. — Découverte et propriétés de souches Hfr	67
II. — Méthodes expérimentales.	70
A. Souches bactériennes.	70
B. Cultures bactériennes.	72
C. Croisements bactériens	72
III. — Le système génétique bactéries Hfr H-bactéries F ⁻ : le segment chromosomique TL-Gal	75
A. Les recombinants T ⁺ L ⁺ S ^r et les caractères génétiques transmis à haute fréquence par les bactéries Hfr H	75
B. Les recombinants Gal ⁺ S ^r et la polarité du segment chromosomique TL-Gal.	76
C. Cinétique de la formation des recombinants génétiques	78
D. Variations provenant de la nature des souches mises en œuvre dans les croisements Hfr H × F ⁻	80

CHAPITRE VI. — <i>La localisation chromosomique des prophages.</i>	84
I. — Le bactériophage tempéré λ .	84
A. Souches lysogènes K12(λ) et souches lysogènes défectives K12(λ d).	85
B. Le système génétique du bactériophage λ .	85
C. Méthodes d'étude des croisements mettant en œuvre des souches lysogènes.	86
II. — La localisation du prophage λ .	88
A. Les croisements Hfr H(λ) ⁻ $\times$ F ⁻ (λ) ⁺ et le déterminisme chromosomique de la lysogénie.	88
B. Les croisements Hfr H(λ) ⁺ $\times$ F ⁻ (λ) ⁺ et la localisation chromosomique du prophage λ .	90
C. Les croisements Hfr H(λ) ⁺ $\times$ F ⁻ (λ) ⁻ et les déformations génétiques qui s'y observent.	92
III. — Localisation de quelques prophages.	92
A. Propriétés de quelques bactériophages tempérés actifs sur <i>E. coli</i> K12.	93
B. Localisation des prophages : les croisements entre bactéries Hfr H non lysogènes et bactéries F ⁻ lysogènes.	94
CHAPITRE VII. — <i>L'induction zygotique et ses effets génétiques.</i>	99
I. — L'induction zygotique du prophage λ .	99
A. Démonstration de l'induction zygotique.	99
B. Le mécanisme de l'induction zygotique.	105
II. — Relations entre le taux d'induction zygotique et la localisation génétique des prophages.	107
III. — Les effets génétiques de l'induction zygotique.	110
A. Effets génétiques de l'induction zygotique du prophage λ .	110
B. Effets génétiques de l'induction zygotique de divers prophages.	114
CHAPITRE VIII. — <i>Les étapes de la conjugaison bactérienne.</i>	115
I. — La conjugaison bactérienne et ses modes d'expression.	117
A. La cinétique de la conjugaison.	117
B. La fréquence de conjugaison.	119
C. Observation directe de la conjugaison.	120
II. — La formation des zygotes.	122
A. Les étapes de la formation des zygotes.	122
B. Les hypothèses concernant la nature de l'apport génétique des bactéries donatrices aux zygotes.	123
C. L'hétérogénéité des zygotes formés dans un croisement entre bactéries Hfr H et bactéries F ⁻ .	126

III. — La formation des recombinauts génétiques.	128
A. Les étapes de la formation des recombinauts génétiques. . .	128
B. Le coefficient d'intégration des caractères génétiques trans- férés aux zygotes	129
CHAPITRE IX. — <i>Le mécanisme du transfert de matériel génétique au cours de la conjugaison</i>	132
I. — Transfert génétique et segments génétiques transférés . .	132
II. — La cinétique du transfert génétique.	134
A. Étude cinétique du transfert de différents caractères géné- tiques	134
B. La polarité du transfert	137
C. Appariements spécifiques et transfert génétique	139
III. — Le mécanisme du transfert génétique	141
A. Le transfert génétique, processus orienté	141
B. Le processus du transfert génétique et son interruption . .	144
CHAPITRE X. — <i>Discussion</i>	151
I. — Conjugaison et recombinaison génétique chez <i>E. coli</i> K12 .	151
A. Le mécanisme de la basse fréquence de recombinaison . .	152
B. Les mutants Hfr et leurs propriétés génétiques	154
C. La différenciation sexuelle et son déterminisme	155
II. — La méromixie	157
A. Les mécanismes de transfert génétique chez les bactéries . .	158
B. Le problème de la recombinaison génétique	159
III. — La lysogénie, caractère létal potentiel	160
A. Le prophage comme modèle de provirus	161
B. Les infections latentes à virus	162
C. Induction zygotique et hérédité maternelle	163
RÉSUMÉ ET CONCLUSIONS	166
BIBLIOGRAPHIE	171

DEUXIÈME THÈSE

PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ

La stérilité mâle chez le maïs.

VU ET APPROUVÉ :

Paris, le 13 mars 1958.

Le Doyen de la Faculté des Sciences,

J. PÉRÈS.

VU ET PERMIS D'IMPRIMER :

Le Recteur de l'Académie de Paris,

JEAN SARRAILH.

